UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1956 — N° 393

QUELQUES ASPECTS DE LA RÉACTIVITÉ CHIMIQUE DE L'ISONIAZIDE

Travail effectué au Laboratoire de Biochimie médicale
de l'Ecole de Médecine et de Pharmacie de Dakar.
(Docteur E. NEUZIL, Maître de Conférences agrégé.)

THÈSE POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ
Mention "PHARMACIE"

présentée et soutenue publiquement le Mardi 23 Octobre 1956

PAR

Madeleine BAUME, née DELCAIRE

Née à Menet (Cantal), le 18 Août 1924.

Examinateurs de la Thèse :

MM. TAYEAU, professeur..... *Président*
VITTE, professeur.....
PAUTRIZEL, professeur..... *Juges*
NEUZIL, maître de conférences agrégé.....

BORDEAUX
IMPRIMERIE E. DROUILLARD
3, PLACE DE LA VICTOIRE, 3
—
1956

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547307_0006

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1956 — N° 393

QUELQUES ASPECTS DE LA RÉACTIVITÉ CHIMIQUE DE L'ISONIAZIDE

Travail effectué au Laboratoire de Biochimie médicale
de l'Ecole de Médecine et de Pharmacie de Dakar.
(Docteur E. NEUZIL, Maître de Conférences agrégé.)

THÈSE POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ
Mention "PHARMACIE"

présentée et soutenue publiquement le Mardi 23 Octobre 1956

PAR

Madeleine BAUME, née DELCAIRE

Née à Menet (Cantal), le 18 Août 1924.

Examinateurs de la Thèse :

MM. TAYEAU, professeur..... *Président*
VITTE, professeur.....
PAUTRIZEL, professeur..... *Juges*
NEUZIL, maître de conférences agrégé .....

BORDEAUX
IMPRIMERIE E. DROUILLARD
3, PLACE DE LA VICTOIRE, 3

1956

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

DOYENS HONORAIRES : MM. DUPERIÉ, CHELLE, G. PORTMANN.

DOYEN : M. SIGALAS. — **ASSESSEUR** : M TAYEAU.

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. A. MANDOUL, ANDERODIAS, ROCHER, LANDE. DUVERGEY, CARLES, LEURET, CHARRIER, DUBREUIL, CRUCHET, PERRENS, BEAUVIEUX, CREYX, MAURIAC.

PROFESSEURS :

	MM.
Clinique médicale	DE GRAILLY BROUSTET
Clinique chirurgicale	PAPIN MASSE
Clinique d'accouchements	M. RIVIERE
Clinique gynécologique	MAGENDIE
Anatomie pathologique et microscopie clinique	LEGER
Anatomie	DUFOUR
Anatomie générale et histologie	MAYER
Hygiène et Clinique de la tuberculose	PIECHAUD
Médecine légale et médecine du travail	DERVILLEE
Electroradiologie et clinique d'électricité médicale	REBOUL
Chimie	MESNARD
Matière médicale	MASQUELIER
Pharmacie	VITTE
Physiologie	FABRE
Clinique médicale des maladies des enfants	FONTAN
Zoologie et parasitologie	SIGALAS

	MM.
Pathologie générale et expérimentale	SARIC
Clinique ophtalmologique	BESSIERE
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	POUYANNE
Clinique médicale et des maladies infectieuses	AUBERTIN
Chimie biologique et médicale	TAYEAU
Physique médicale et pharmaceutique	PIFFAULT
Médecine et hygiène tropicales et Clinique des maladies exotiques	MORETTI
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	JOULIA
Clinique des maladies des voies urinaires	DARGET
Clinique des maladies nerveuses et mentales	DELMAS-MARSALET
Clinique d'oto-rhino-laryngologie	G. PORTMANN
Toxicologie et hygiène appliquée	CASTAGNOU
Clinique odonto-stomatologique	DUBECQ
Botanique et cryptogamie	GIRARD
Thérapeutique	F.-J. TRAISSAC
Hydrologie thérapeutique et climatologie	DUBARRY
Carcinologie	LACHAPELE

PROFESSEUR A TITRE PERSONNEL :

M. BLANQUET (Section Pharmacie)

PROFESSEURS SANS CHAIRE :

MM. MAHON (Obstétrique), PAUTRIZEL (Parasitologie), Mlle ROUGIER (Physiologie), M. MOUSTARDIER (Bactériologie)
M. CAZAUX (Pharmacie 3e Section)

MAITRES DE CONFÉRENCES AGRÉGÉS :

	MM.
Anatomie pathologique	N.
Anatomie	RIGAUD CABANIE
Biochimie médicale	NEUZIL
Pathologie expérimentale	FAURE

	MM.
Physique médicale	DUHAMEL
Pharmacie (1re Section)	R. GOLSE ROMAIN
Pharmacie (2e Section)	QUILICHINI N.

CHARGÉ DES FONCTIONS DE MAITRE DE CONFÉRENCES AGRÉGÉ :

M. STOLL (Histologie)

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

	MM.
Médecine générale	BERGOUIGNAN LENG-LEVY LAVIGNOLLE MARTIN-DUPONT DAVID-CHAUSSE J. RIVIERE
Chirurgie générale	LAUMONIER CHAVANNAZ VILLAR TINGAUD DEPAULIS DARMAILLACQ

	MM.
Obstétrique	CHASTRUSSE FAUGERE
Ophtalmologie	CORCELLE
Oto-rhino-laryngologie	DESPONS M. PORTMANN
Dermatologie et syphiligraphie	LE COULANT
Pédiatrie et puériculture	VERGER
Médecine légale et médecine du travail	L'EPEE
Odonto-stomatologie	BENOIT
Urologie	LANGE
Neurologie et psychiatrie	BLANC
Pneumo-phtisiologie	FREOUR

COURS COMPLÉMENTAIRES :

	MM.
Médecine opératoire	LAUMONIER
Accouchements	CHASTRUSSE FAUGERE
Puériculture	VERGER PERY
Législation pharmaceutique	COUSTOU
Cryptogamie	LAUBIE
Obstétricie sociale	MAHON
Organographie et physiologie végétale	TEMPERE
Chimie biologique analytique	MARQUEVIELLE
Chimie analytique	BABIN
Pathologie chirurgicale	VILLAR CHAVANNAZ TINGAUD DARMAILLACQ LAPORTE

	MM.
Zoologie pharmaceutique	BAILENGER
Physiologie	BENELLI
Toxicologie et Hygiène	Mlle LARCEBAU
Phytopharmacie	CORTESI
Droit médical international	AUBY
Médecine légale	L'EPEE
Séméiologie médicale	J. RIVIÈRE
Séméiologie chirurgicale	DEPAULIS
Embryologie	STOLL
Pathologie médicale	BERGOUIGNAN LEVY LAVIGNOLLE DAVID-CHAUSSE RIVIERE MARTIN-DUPONT

Le Secrétaire principal de la Faculté : André GAYRAUD

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation, ni improbation.

A MON MARI

A MON PÈRE, A MA MÈRE

A MON BEAU-PÈRE, A MA BELLE-MÈRE

A TOUS MES PARENTS

A MES AMIS

A MES CAMARADES
DU LABORATOIRE DE BIOCHIMIE MÉDICALE
DE L'ÉCOLE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE
DE DAKAR

A NOS MAITRES
DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS

A NOS MAITRES
DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE
DE BORDEAUX

A MONSIEUR LE DOCTEUR MORNET

VÉTÉRINAIRE INSPECTEUR GÉNÉRAL DE L'ÉLEVAGE
ET DES INDUSTRIES ANIMALES DE LA FRANCE D'OUTRE-MER
DIRECTEUR DU LABORATOIRE FÉDÉRAL DE L'ÉLEVAGE
A DAKAR (A. O. F.)
CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

Nous vous remercions de toutes les facilités que vous nous avez accordées pour mener à bien ce travail.

Nous conserverons le meilleur souvenir du séjour passé dans votre laboratoire où nous avons toujours trouvé, aussi bien auprès de vous-même qu'auprès de vos collaborateurs, une aide bienveillante et une amicale compréhension.

Nous tenons à vous exprimer ici notre profonde reconnaissance.

A MESSIEURS LES DOCTEURS VÉTÉRINAIRES EN SERVICE AU LABORATOIRE FÉDÉRAL DE L'ÉLEVAGE A DAKAR (A. O. F.)

Qu'ils aient été nos chefs ou nos camarades, ils se sont montrés avant tout des amis. Nous les prions de croire à la fidélité de notre souvenir.

A MONSIEUR LE DIRECTEUR DE L'ÉCOLE DE MÉDECINE ET PHARMACIE INSTITUT DES HAUTES ÉTUDES, DAKAR

En respectueux hommage.

A NOS JUGES :

MONSIEUR LE DOCTEUR E. NEUZIL

MAÎTRE DE CONFÉRENCES AGRÉGÉ DE BIOCHIMIE MÉDICALE

DOCTEUR ÈS SCIENCES

Après nous avoir aimablement accueillie dans votre laboratoire, vous nous avez donné le sujet de cette thèse, puis nous avez guidée pas à pas dans nos recherches, mettant à notre disposition votre constante sollicitude et votre grande culture scientifique.

Nous vous remercions du temps précieux que vous nous avez consacré et qui nous permet aujourd'hui de présenter ce travail : nous sommes heureuse de vous en faire l'hommage avec nos sentiments d'admiration et de grande reconnaissance.

MONSIEUR LE PROFESSEUR R. PAUTRIZEL

DOCTEUR ÈS SCIENCES

DIRECTEUR DU LABORATOIRE DÉPARTEMENTAL DE SÉROLOGIE

EXPERT DE L'ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ

CROIX DE GUERRE 1939-1945

CHEVALIER DES PALMES ACADÉMIQUES

Vous avez accepté de siéger dans notre jury de thèse et nous vous exprimons notre vive reconnaissance.

MONSIEUR LE PROFESSEUR G. VITTE

PROFESSEUR DE PHARMACIE

PHARMACIEN DES HÔPITAUX

MEMBRE CORRESPONDANT DE L'ACADÉMIE DE PHARMACIE

OFFICIER DES PALMES ACADÉMIQUES

CHEVALIER DE L'ORDRE DE LA SANTÉ PUBLIQUE

Vous avez bien voulu vous intéresser à notre travail et nous vous assurons de notre respectueuse gratitude.

A NOTRE PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR F. TAYEAU

PROFESSEUR DE CHIMIE BIOLOGIQUE ET MÉDICALE

ASSESSEUR DU DOYEN

DOCTEUR ÈS SCIENCES

OFFICIER DES PALMES ACADÉMIQUES

MÉDAILLE D'HONNEUR DU SERVICE DE SANTÉ DE LA MARINE

Nos études à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux nous avaient déjà permis de profiter de votre brillant enseignement.

Nous sommes très sensible aujourd'hui au grand honneur que vous nous faites en acceptant de présider notre jury de thèse et nous tenons à vous assurer de notre respectueuse reconnaissance.

QUELQUES ASPECTS DE LA RÉACTIVITÉ CHIMIQUE DE L'ISONIAZIDE

INTRODUCTION

Le 14 mars 1882 représente une date capitale dans l'histoire de la tuberculose : Robert Koch exposait, en effet, à la Société de Physiologie de Berlin le résultat définitif de ses recherches, qui lui avaient permis de déceler dans les tissus tuberculeux un bacille responsable de cette infection. Koch apportait ainsi une brillante confirmation des conceptions de Villemin, qui avait soutenu le premier, dix-sept ans auparavant, la spécificité, l'inoculabilité et la contagiosité de la maladie tuberculeuse.

Ces découvertes suscitèrent un grand enthousiasme dans le monde médical et les praticiens de la fin du siècle dernier purent enfin penser que la phtisie, devant laquelle ils étaient sans armes, serait un jour curable. La littérature de cette époque se montre résolument optimiste pour l'avenir. V. Hanot, dès 1884, termine son article « Tuberculose », dans le Nouveau dictionnaire de médecine et de chirurgie pratiques, par les lignes suivantes :

« La découverte du parasite de la tuberculose a donné en quelque sorte un corps à la vague espérance, toujours caressée par les médecins, de trouver un spécifique, un parasiticide de la tuberculose. Cependant jusqu'aujourd'hui les résultats ont été nuls ou à peu près, quoi qu'on ait essayé : l'acide phénique, le benzoate de soude, si prôné par Schuller, l'iodoforme, etc., etc.

« Quelques-uns des nouveaux médicaments préconisés à ce point de vue sont loin d'être sans utilité, comme la créosote, le salicylate de soude, l'acide salicylique, etc., etc., mais il est impossible d'affirmer qu'ils agissent comme parasiticides et non pas autrement. Quoi qu'il en soit, les espérances de l'heure présente sont des plus légitimes, et il est bien encourageant de penser qu'elles se réaliseront probablement un jour. »

Le même espoir anime J. Granché et V. Hutinel qui, trois ans plus tard, dans la mise au point sur la tuberculose rédigée pour le célèbre Dictionnaire encyclopédique des sciences médicales de A. Dechambre et L. Lereboullet, concluent ainsi : « Jusqu'ici on a marché à tâtons à la recherche des moyens curatifs de la phtisie, au milieu des remèdes et des formules de l'ancienne médecine, sans direction et sans flambeau. Eclairés que nous sommes par les découvertes modernes, nous pouvons maintenant avancer avec plus d'assurance vers le but. Connaissant déjà l'existence et les mœurs du bacille pathogène cause première des lésions tuberculeuses, peut-être arriverons-nous un jour à le dompter ! »

La possibilité de réaliser des cultures du *Mycobacterium tuberculosis* allait donc permettre l'étude expérimentale de la sensibilité du germe pathogène aux agents chimiques : un immense champ s'ouvrait devant la chimiothérapie de la tuberculose. C'est encore à Koch que nous devons les premiers résultats intéressants dans ce domaine : le bactériologiste allemand montra en 1890, au congrès international de Berlin, la haute activité du cyanure double d'or et de potassium.

La transposition des expériences *in vitro* à l'infection tuberculeuse expérimentale ou à la clinique humaine s'avéra bientôt décevante ; tandis que la chimiothérapie marquait des progrès décisifs dans le domaine des affections parasitaires, tout particulièrement dans le traitement des spirochétoses et des trypanosomiases puis, à partir de 1935, dans le domaine des infections microbiennes avec les sulfamides, les médicaments chimiques de la phtisie, après quelques rares succès, sombraient au contraire les uns après les autres dans l'oubli : ni les sels d'or, ni les sulfamides, ni les dérivés de l'acide chaulmoogrique ne réussirent à s'imposer aux médecins.

L'enthousiasme qui suivit l'isolement du BK fit progressivement place à une désillusion croissante. Michel Léon-Kindberg (*), en 1931, en pleine « mode » du traitement par les sels d'or, n'hésite pas à écrire qu' « il n'existe aucun médicament de la phtisie, aucun remède spécifique de la tuberculose » ; après avoir condamné les médications biologiques de la tuberculose, il affirme en outre qu' « on ne saurait dire beaucoup plus de bien de la plupart des médicaments chimiques tour à tour prônés dans la phtisie ».

(*) *In* Pratique médico-chirurgicale, 3e édition, t. VIII, p. 660 et p. 665 ; Masson et Cie, édit., Paris, 1931.

L'opinion de J. Rolland (*) résume celle de la majorité du corps médical avant la deuxième guerre mondiale : « la thérapeutique médicamenteuse de fond a eu le temps, depuis qu'elle est employée, de faire, il faut bien le reconnaître, la preuve de son inutilité : étant inutile, elle est nuisible, parce qu'elle donne aux malades une fausse sécurité et leur fait perdre un temps précieux ».

La situation s'est renversée au lendemain de cette guerre et nous avons eu la chance de suivre au cours de nos études pharmaceutiques le développement d'une véritable thérapeutique active de la tuberculose. Dès 1945, la streptomycine, isolée l'année précédente par Waskman d'une souche de *Streptomyces griseus,* se montrait active dans l'infection bacillaire expérimentale et bientôt son efficacité fut confirmée chez l'Homme. L'année 1946, après la première victoire biologique, marque la première victoire chimique avec la démonstration de l'activité antimycobactérienne de l'acide *p*-aminosalicylique (Lehmann) ; ce succès chimiothérapique survenait plus de soixante années après la découverte de Koch. Il est curieux toutefois de remarquer que, dès la fin du siècle dernier, les salicylés, en raison de leur action antithermique, étaient couramment employés dans la tuberculose et que l'acide *p*-aminosalicylique est connu depuis les travaux de H. Seidel et J.C. Bittner en 1901 ; mais aucun chercheur n'a eu l'idée à cette époque de remplacer le classique salicylate de sodium ou l'aspirine par le dérivé aminé correspondant.

Par ailleurs, les sulfones, dont Rist avait démontré en 1939 l'activité sur le BK, conduisirent un groupe de chercheurs allemands dirigés par Domagk à l'étude du pouvoir antituberculeux de divers sulfamides substitués au niveau du groupement sulfamidé par des noyaux hétérocycliques soufrés : le sulfathiazol et surtout le sulfathiodiazol, produits relativement peu actifs, amenèrent Domagk en 1948 à la série beaucoup plus intéressante des thiosemicarbazones, dont l'activité en clinique humaine fut largement démontrée de tous côtés.

Trois ans plus tard, l'hydrazide de l'acide *iso*nicotinique (INH) apportait le médicament le plus efficace que nous connaissions encore aujourd'hui vis-à-vis du BK et l'on sait combien cette substance, désignée depuis sous l'appellation commune d'isoniazide, seule ou associée à la streptomycine ou

(*) *In* Nouveau traité de pathologie interne, 3e partie, t. III, p. 893; G. Doin et Cie, édit., Paris, 1938.

au PAS, a révolutionné la conduite thérapeutique et le pronostic de la tuberculose.

Six années se sont écoulées depuis 1951, au cours desquelles la littérature scientifique s'est enrichie d'un nombre considérable de publications relatives à l'isoniazide. Cette substance, de structure moléculaire très simple, possède une grande réactivité chimique : elle donne lieu à la formation de très nombreux dérivés ; c'est un composé pyridinique qui, de ce fait, s'apparente à plusieurs principes biologiques fondamentaux, tout particulièrement à l'amide nicotinique et au groupe des facteurs vitaminiques B_6. Son action élective sur les mycobactéries, son efficacité à des dilutions extrêmes n'ont pas manqué d'attirer l'attention des chercheurs. Cependant, malgré la multiplication des recherches, le mode d'action de ce tuberculostatique reste encore très mystérieux.

*
**

Après une longue interruption, nous avons repris contact avec le laboratoire et la recherche scientifique à Dakar, où nous avons travaillé au Laboratoire fédéral de l'Elevage. Notre activité dans ce centre nous a rapprochée de l'Ecole de médecine et de pharmacie de Dakar, où M. Neuzil, Maître de Conférences agrégé, qui venait d'être détaché de la Faculté de médecine et de pharmacie de Bordeaux, a bien voulu nous accueillir dans son laboratoire de recherches.

L'introduction dans l'arsenal thérapeutique de l'hydrazide de l'acide *iso*nicotinique avait attiré l'attention des chercheurs sur deux familles chimiques considérées jusqu'alors comme d'intérêt secondaire et de ce fait peu étudiées : les hydrazides et les dérivés pyridiniques substitués en γ. M. Neuzil s'intéressait, depuis plusieurs années déjà, aux problèmes chimiques relatifs à l'isoniazide et avait effectué à ce sujet des recherches originales, recherches auxquelles a participé son élève le Docteur Segonne ; la lecture des différents articles s'y afférant et la thèse du Docteur Segonne nous ont montré l'intérêt qui s'attache à l'étude des propriétés chimiques de l'hydrazide de l'acide *iso*nicotinique pour l'interprétation du mode d'action du tuberculostatique aussi bien que pour la thérapeutique.

Nous nous sommes rapidement rendu compte qu'il restait encore beaucoup à faire dans ce domaine, malgré le nombre

important des publications. Aussi, parmi les différents sujets de travail que M. NEUZIL nous a proposés en vue de notre thèse inaugurale, avons-nous préféré continuer les travaux commencés au Laboratoire de chimie biologique de la Faculté de médecine et de pharmacie de Bordeaux.

Nos essais expérimentaux nous ont conduite, à plusieurs reprises, à effectuer des recherches sur d'autres substances que l'isoniazide, substances pyridiniques voisines ou substances simplement apparentées par la présence dans leur molécule d'une même fonction chimique.

Notre travail a été considérablement facilité par les conseils, les encouragements et les concours dont nous avons largement bénéficié.

Nous tenons à assurer M. le Professeur TAYEAU de notre gratitude : c'est grâce à sa bienveillance que notre travail a pu être réalisé *extra muros ;* nous n'oublions pas que nous avons eu la chance de l'avoir comme professeur pendant une année scolaire et qu'il a su nous montrer combien la biochimie médicale est une science aimable, c'est-à-dire une science que l'on peut aimer.

Nous exprimons également toute notre gratitude à M. le Maître de Conférences agrégé NEUZIL : indulgent pour notre inexpérience, il a inspiré nos travaux, patiemment guidé nos recherches, suivi la rédaction de notre thèse, nous faisant bénéficier à tout instant de ses conseils éclairés, de sa brillante érudition et de son entière sollicitude. Qu'il trouve ici l'expression de notre admiration et de notre reconnaissance.

Nous voudrions remercier aussi M. BRETON, assistant, qui nous a bien souvent aidée dans nos travaux et nous a fait profiter de ses connaissances avec tant de bonne grâce et de cordialité.

Les Laboratoires ROCHE nous ont toujours aimablement et gracieusement approvisionnée en isoniazide. Nous remercions MM. les Directeurs des Laboratoires de microanalyse de l'Ecole Normale Supérieure de Paris, du Laboratoire municipal de la ville de Paris, de la Faculté de pharmacie de Paris, qui ont bien voulu se charger de la tâche ingrate des microanalyses.

Nous n'oublions pas enfin que la réalisation de notre travail a été grandement facilitée par la bienveillante compréhension de M. le Docteur MORNET, Vétérinaire Inspecteur général de l'Elevage et des Industries animales de la F.O.M., Directeur

du Laboratoire fédéral de l'Elevage de l'A.O.F. Nous tenons à le remercier ici de ses encouragements et de l'aide constante que nous avons trouvée dans son laboratoire.

*
**

Avant d'exposer le détail de nos investigations personnelles il nous a semblé utile d'indiquer au lecteur les données actuelles concernant les points essentiels de la synthèse du tuberculostatique si puissant que constitue l'isoniazide ; nous avons également groupé dans ce chapitre de généralités quelques propriétés physico-chimiques de ce médicament.

Le plan adopté est le suivant :

I. — Synthèse de l'hydrazide de l'acide *iso*nicotinique : quelques caractéristiques physico-chimiques de ce tuberculostatique.

II. — Recherches personnelles : quelques aspects de la réactivité chimique de l'isoniazide.

1° Réaction avec différents acides : nouveaux sels minéraux et organiques d'isoniazide.

2° Réaction avec les composés carbonylés.

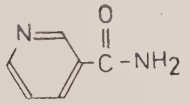
3° Oxydation sélénique de l'isoniazide et de quelques substances apparentées.

III. — Conclusions générales.

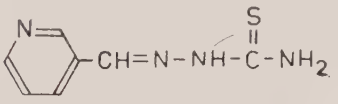
PREMIÈRE PARTIE

SYNTHÈSE DE L'HYDRAZIDE DE L'ACIDE *iso*NICOTINIQUE ; QUELQUES CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DE CE TUBERCULOSTATIQUE

Nous n'insisterons pas sur la manière dont on a découvert les propriétés tuberculostatiques de l'hydrazide *iso*nicotinique (*) : rappelons simplement qu'à la suite de la mise en évidence par Chorine [77] de l'action inhibitrice de l'amide nicotinique sur la croissance du BK, Levaditi [225] étudia l'action sur ce germe de la thiosemicarbazone de l'aldéhyde nicotinique ; ce dernier produit semblait devoir être plus



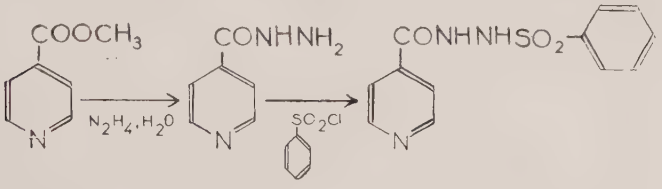
Amide nicotinique.



Thiosemicarbazone de l'aldéhyde nicotinique.

actif que la vitamine PP, car Domagk [108] venait de montrer l'intérêt des thiosemicarbazones dans le traitement de la tuberculose ; les espérances de Levaditi furent pleinement confirmées, mais le produit s'avéra difficilement utilisable en clinique.

C'est alors que Fox [127] entreprit l'étude de différents composés pyridiniques voisins : pour synthétiser la thiosemicarbazone de l'aldéhyde *iso*nicotinique, cet auteur transforme l'*iso*nicotinate de méthyle en hydrazide *iso*nicotinique, lequel, traité à son tour par le chlorure de benzène sulfonyle, donne naissance à l'*iso*nicotinoyl-1-benzènesulfonyl-2-hydrazine ; ce



*iso*Nicotinate de méthyle.

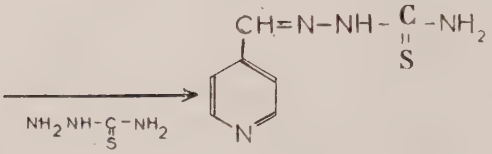
Hydrazide de l'acide *iso*nicotinique.

*iso*Nicotinoyl-1-benzènesulfonyl-2-hydrazine.

dernier dérivé enfin, soumis à une hydrolyse alcaline en présence de thiosemicarbazide, conduit à la thiosemicarbazone

(*) Au sujet des acquisitions récentes concernant les tuberculostatiques modernes, consulter la revue générale de Neuzil. [278].

recherchée, qui se révéla nettement efficace vis-à-vis du BK [126].



Thiosemicarbazone de l'aldéhyde *iso*nicotinique.

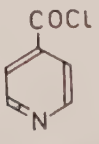
En étudiant l'activité biologique des produits intermédiaires de cette synthèse, GRUNBERG et SCHNITZER [166] furent frappés par les propriétés tuberculostatiques uniques de l'hydrazide de l'acide *iso*nicotinique.

I. — SYNTHÈSE DE L'HYDRAZIDE DE L'ACIDE *ISO*NICOTINIQUE

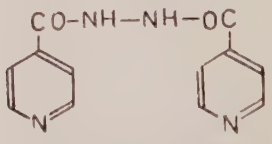
L'*iso*nicotinylhydrazide, comme beaucoup de médicaments récemment introduits dans la thérapeutique, n'est pas une substance chimique nouvelle ; elle a été synthétisée pour la première fois en 1912 par deux chimistes de l'Université allemande de Prague : MEYER et MALLY [260].

Ces auteurs avaient utilisé la préparation classique des hydrazides, qui consiste à chauffer un ester de l'acide, habituellement l'ester méthylique ou l'ester éthylique, en présence d'une solution concentrée d'hydrate d'hydrazine. C'est encore cette hydrazinolyse de l'*iso*nicotinate d'éthyle que l'on emploie actuellement pour la préparation industrielle de l'isoniazide ; la réaction s'effectue habituellement au sein de l'éthanol [55, 67, 68, 129, 258, 285, 322].

Une autre préparation de l'isoniazide a été récemment



Chlorure d'acide de l'acide *iso*nicotinique.



Bis-*iso*Nicotinoylhydrazine.

brevetée par MAGRANE [241] : elle consiste à traiter par l'hydrazine le chlorure d'acide de l'acide *iso*nicotinique, dans le

benzène anhydre ; cette opération doit être effectuée avec beaucoup de précautions car le chlorure d'acide de l'acide *iso*nicotinique peut également réagir avec l'hydrazine pour donner naissance à la bis-*iso*nicotinoylhydrazine [162, 30].

La synthèse de l'INH exige donc comme matière première l'acide *iso*nicotinique, à partir duquel on obtient facilement l'ester, soit en traitant le chlorure d'acide par l'éthanol [348], soit par l'action directe de l'éthanol sur l'acide *iso*nicotinique en présence d'acide chlorhydrique ou sulfurique [232]. Tout le problème de la préparation industrielle de l'isoniazide se résume donc dans l'obtention d'acide *iso*nicotinique.

II. — SYNTHÈSE DE L'ACIDE *ISO*NICOTINIQUE (*)

Les procédés de préparation de l'acide *iso*nicotinique sont nombreux ; les uns consistent en la transformation d'un composé possédant déjà le noyau de la pyridine ; d'autres permettent des synthèses complètes à partir de composés aliphatiques ou aromatiques.

A. — **Préparation à partir de composés pyridiniques.**

L'acide *iso*nicotinique possédant un noyau pyridinique substitué en position γ, les préparations les plus simples vont s'effectuer à partir d'un dérivé pyridinique possédant la même substitution spatiale ; mais il est également possible de profiter des phénomènes de transposition sur le noyau pyridinique pour préparer l'acide *iso*nicotinique à partir de la pyridine ou de pyridines α- ou β-substituées.

1° Préparation a partir de composés pyridiniques substitués en position γ.

Il convient de faire une nouvelle distinction dans ces méthodes, selon que le radical présent en position γ est unique ou non.

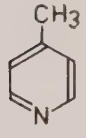
a) *Transformation de pyridines monosubstituées en* γ.

C'est par l'oxydation permanganique de la γ-picoline que Behrmann et Hofmann [26] préparèrent dès 1884 l'acide

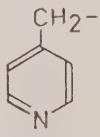
(*) La rédaction de ce paragraphe nous a été considérablement facilitée par un récent article de Sah [322].

*iso*nicotinique ; leur travail fut ensuite confirmé par Skraup [344]. La γ-picoline provient elle-même de la distillation des goudrons de houille ou de l'huile de Dippel ; on en trouve en petites quantités dans les produits de cracking du pétrole de Californie [171]. L'oxydation de la picoline peut être également réalisée par le bioxyde de manganèse [241] ; l'utilisation de l'oxyde de sélénium au sein de l'éther phénylique a été récemment proposée par Cook et Yunghans [84] ; Fox, essayant de synthétiser l'aldéhyde *iso*nicotinique, avait déjà signalé l'obtention de l'acide correspondant par oxydation sélénique de la γ-picoline [127].

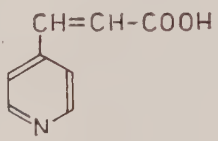
Lorsqu'on ne dispose pas de γ-picoline pure, on peut soumettre à l'oxydation la fraction de distillation du goudron de houille qui passe à 135-142° C : cette fraction contient en effet, parmi d'autres bases pyridiniques, une proportion importante de γ-picoline [301]. Un résultat analogue peut être obtenu à partir d'huiles animales (huile d'os) en recueillant la fraction passant à 150-170° C [373].



γ-Picoline.



Ethyl-4-pyridine.



Acide (γ-pyridyl) -β-acrylique.

*iso*Nicotine.

On peut également obtenir l'acide *iso*nicotinique par oxydation permanganique de l'éthyl-4-pyridine [214, 215, 216], de l'acide (γ-pyridyl)-β-acrylique [307] ou de l'*iso*nicotine [374].

Amino-4-pyridine. Bromo-4-pyridine.

C'est enfin à partir d'un autre composé pyridinique γ-substitué, l'amino-4-pyridine, que Murray et Langham [273] ont effectué la synthèse d'un acide *iso*nicotinique marqué dans son groupement carboxylique par du carbone radioactif ; le

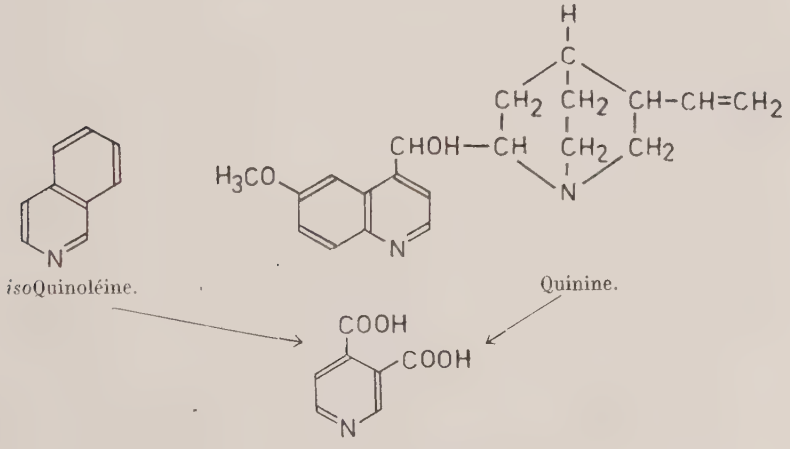
dérivé est transformé en bromo-4-pyridine qui, en présence de *n*-butyllithium et de gaz carbonique marqué, fournit l'acide désiré.

b) *Transformation de pyridines plurisubstituées possédant un substituant en position* γ.

Il s'agit le plus souvent d'acides pyridine polycarboxyliques obtenus par synthèse ou dérivant de produits naturels.

Lutidine-2,4. Acide pyridine dicarboxylique-2,4.

L'acide pyridine dicarboxylique-2,4, ou acide lutidinique, provenant lui-même de l'oxydation de la lutidine-2,4 [82], se décarboxyle en acide *iso*nicotinique par chauffage à 245° C dans un courant d'hydrogène [373] ou par sublimation au-dessus de 200° C [45]. La sublimation peut encore s'effectuer en présence d'acétate de cuivre : elle conduit alors à l'*iso*nicotinate de cuivre, transformé en acide par SO_4H_2 [232].



*iso*Quinoléine. Quinine.

Acide cinchoméronique.

L'acide pyridine dicarboxylique-3,4, ou acide cinchoméronique, obtenu par oxydation nitrique de l'*iso*quinoléine [187]

ou de la quinine [356, 201, 205], se décarboxyle en fournissant un mélange d'acide *iso*nicotinique et d'acide nicotinique lorsqu'on le soumet à la distillation [184] ou lorsqu'on le chauffe en tube scellé à 215° C avec de l'acide acétique contenant 10 p. 100 d'anhydride acétique [356], ou encore avec de la quinoléine [250].

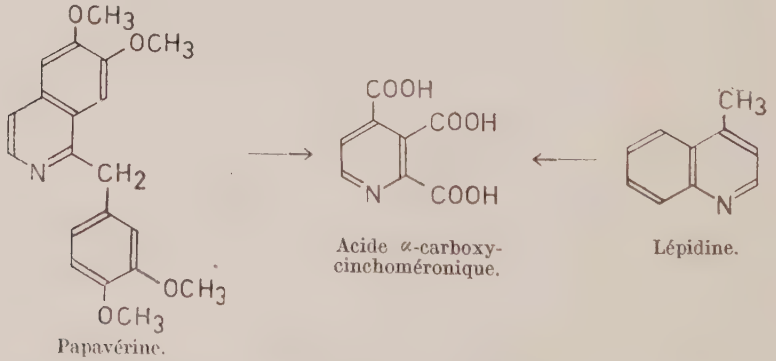
La séparation ultérieure des acides nicotinique et *iso*nicotinique est assez facile et s'effectue par cristallisation fractionnée dans l'eau, où le dernier acide est peu soluble [59].

Sel d'argent du monoester méthylique du cinchoméronate de méthyle.

*iso*Nicotinate de méthyle.

Le passage de l'acide cinchoméronique à l'acide *iso*nicotinique peut encore être effectué en distillant dans un courant d'hydrogène le sel d'argent du monoester méthylique de l'acide pyridine dicarboxylique-3,4 : on obtient ainsi directement l'*iso*nicotinate de méthyle [356].

Des décarboxylations analogues peuvent se produire à partir des acides pyridine tricarboxyliques. L'acide pyridine tricarboxylique-2,3,4 ou acide α-carboxycinchoméronique, que l'on obtient par oxydation des alcaloïdes de l'écorce de quinquina [372, 59, 115], de la papavérine [158] ou de la lépi-



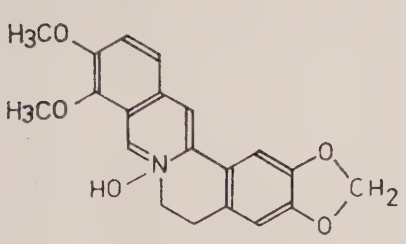
Papavérine.

Acide α-carboxy-cinchoméronique.

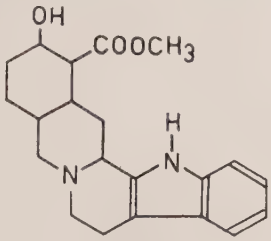
Lépidine.

dine [185, 186], perd les deux groupements carboxyliques situés en position α et β par simple chauffage [342, 343]. Son

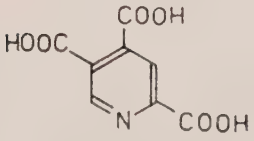
isomère, l'acide pyridine tricarboxylique-2,4,5 ou acide berbéronique, qui dérive de l'oxydation nitrique de la berbé-



Berbérine.

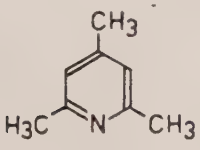


Yohimbine.

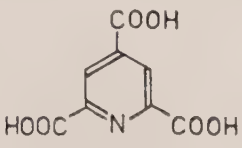


Acide berbéronique.

rine [250, 272] et de la yohimbine [15, 331], subit la décarboxylation par chauffage de son monosel de potassium [138].



Collidine-2,4,6.



Acide trimésitinique.

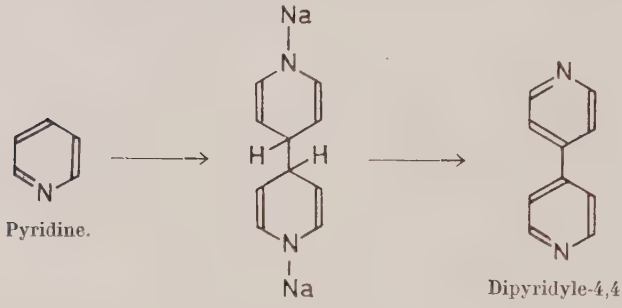
L'acide pyridine tricarboxylique-2,4,6, ou acide trimésitinique, facilement synthétisé par oxydation de la collidine symétrique [43, 47], se sublime en se décomposant en acide *iso*nicotinique [367].

2° Synthèse a partir de composés pyridiniques non substitués en position γ.

a) *Synthèse à partir de la pyridine.*

Une première synthèse est basée sur les recherches d'Emmert relatives à l'action des métaux alcalins sur la pyri-

dine [118]. Lorsqu'on fait réagir sur la base hétérocyclique anhydre le sodium métallique, il se forme un dérivé intermédiaire sodé qui s'oxyde en présence d'air humide en dipyridyle-4,4'. Le rendement de la préparation a été amélioré par

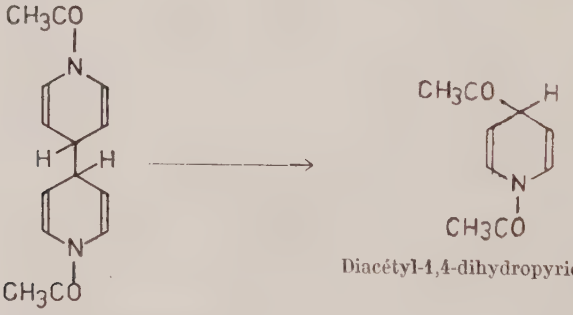


Pyridine. Dérivé sodé. Dipyridyle-4,4'.

Smith [345] ; le dipyridyle-4,4' peut être ensuite facilement transformé en acide *iso*nicotinique sous l'influence du permanganate de potassium.

Une deuxième méthode consiste à chauffer la pyridine à l'autoclave en présence de chlorure ferrique et à isoler l'éthyl-4-pyridine du mélange d'alkylpyridines obtenues [270].

Une autre synthèse fait appel au traitement de la pyridine par l'anhydride acétique et la poudre de zinc et se rapproche

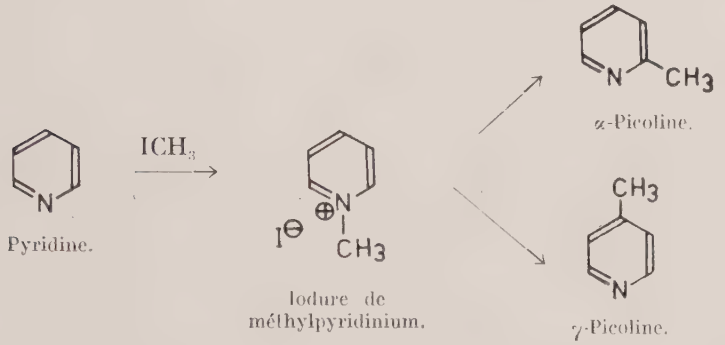


Diacétyl-1,1'-tétrahydrodipyridyle-4,4'. Diacétyl-1,4-dihydropyridine.

des réactions précédentes: on obtient en effet le diacétyl-1,1'-tétrahydrodipyridyle-4,4' [107, 106] ; à partir de ce dernier composé on passe facilement au dipyridyle-4,4' par oxydation ménagée [9], tandis que, par décomposition thermique, on arrive à la diacétyl-1,4-dihydropyridine ; cette dernière

substance, après réduction par l'acide acétique et la poudre de zinc, se transforme en éthyl-4-pyridine [375], produit de départ possible pour la préparation de l'acide *iso*nicotinique (*vide supra*). La technique détaillée a fait l'objet d'une récente mise au point de Frank et Smith [137] ; son application à l'industrie vient de faire l'objet d'un brevet [242]. La même réaction permet la synthèse de nombreuses alkyl-4-pyridines [10].

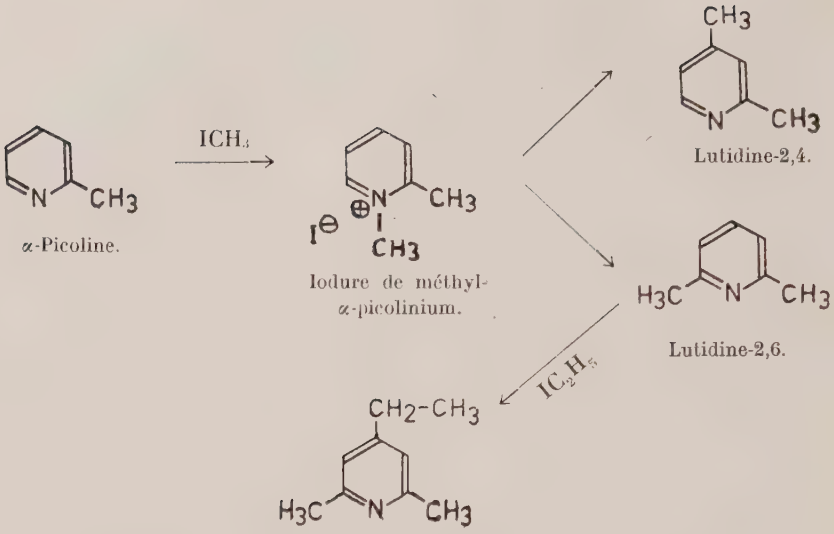
Signalons enfin l'obtention aisée des homologues de la pyridine par la réaction de Ladenburg [212, 213, 214] ; cette réaction consiste à chauffer en tube scellé à 200°-350° C un iodo-alcoylate de pyridine ; la pyridine, par exemple, fixe facilement l'iodure de méthyle pour donner l'iodure de méthylpyridinium ; sous l'influence du chauffage, ce produit



s'isomérise en donnant un mélange d'α- et de γ-picoline, que l'on peut séparer assez facilement par distillation fractionnée ; nous avons vu plus haut comment on transforme la γ-picoline en acide *iso*nicotinique ; des réactions analogues se produisent par chauffage de l'iodure d'éthylpyridinium [216].

b) *Synthèse à partir de pyridines α-substituées.*

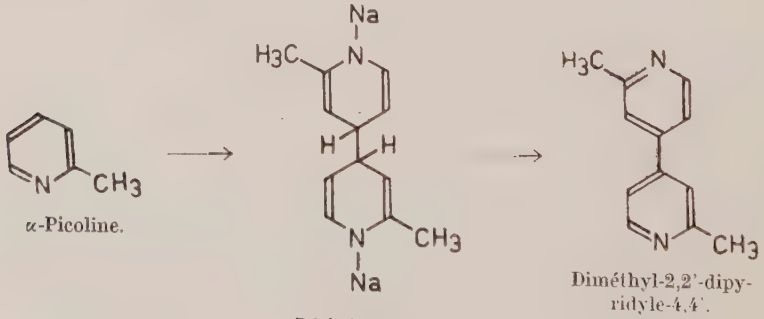
On peut également préparer l'acide *iso*nicotinique à partir de l'α-picoline ou de l'éthyl-2-pyridine [322]. Nous suivrons les étapes en prenant l'exemple de l'α-picoline ; cette base azotée, tout comme la pyridine, fixe l'iodure de méthyle (ou l'iodure d'éthyle) et donne l'iodure de méthyl-α-picolinium [274, 200] ; la pyrolyse de ce dernier composé donne naissance à un mélange de lutidines-2,4 et 2,6.

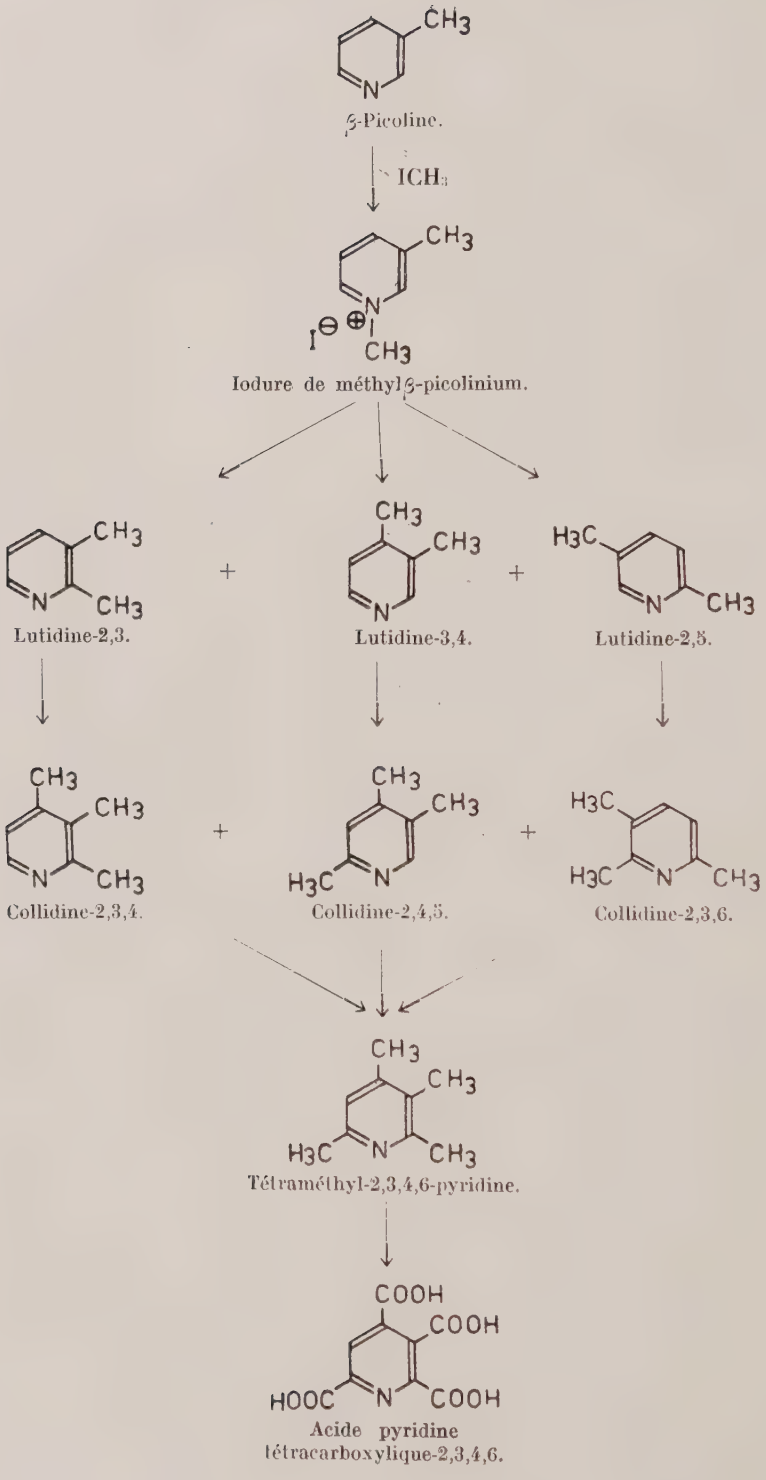


La lutidine-2,4 s'oxyde très facilement en acide lutidinique-2,4, précurseur possible de l'acide *iso*nicotinique.

La transformation de la lutidine-2,6 en acide *iso*nicotinique apparaît plus complexe : elle nécessite tout d'abord la transformation en diméthyl-2,6-éthyl-4-pyridine sous l'influence de l'iodure d'éthyle et de l'alcool éthylique absolu en tube scellé [212, 213, 214, 216] ; la pyridine trisubstituée ainsi obtenue est oxydée en acide tricarboxylique-2,4,6, sublimé enfin en acide *iso*nicotinique.

Une autre voie possible consiste à traiter l'α-picoline par le sodium métallique [322] ; la réaction, voisine de celle obtenue avec la pyridine, conduit au diméthyl-2,2'-dipyridyle-4,4' [1] que l'on oxyde en acide lutidinique-2,4.



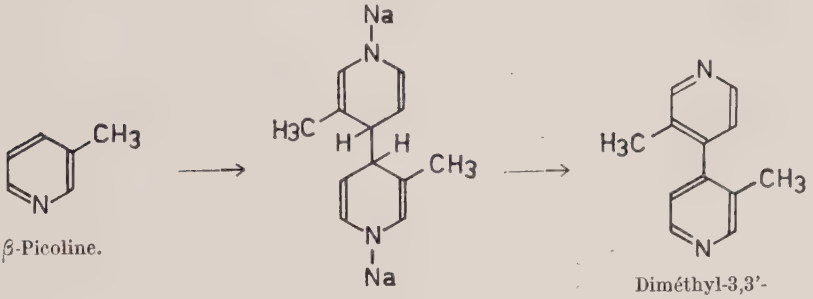

β-Picoline.
ICH3
Iodure de méthyl β-picolinium.
Lutidine-2,3.
Lutidine-3,4.
Lutidine-2,5.
Collidine-2,3,4.
Collidine-2,4,5.
Collidine-2,3,6.
Tétraméthyl-2,3,4,6-pyridine.
Acide pyridine
tétracarboxylique-2,3,4,6.

c) *Synthèse à partir de pyridines β-substituées.*

Ces méthodes de préparation [322] sont calquées sur celles du paragraphe précédent.

La β-picoline, traitée par l'iodure de méthyle (ou d'éthyle) donne l'iodure de méthyl-β-picolinium ; cet ammonium quaternaire, chauffé à l'autoclave, fournit un mélange de trois lutidines substituées en (2,3), (3,4) et (2,5) ; on ne cherche pas à effectuer la séparation de ces bases azotées, que l'on traite à nouveau par l'iodure de méthyle qui fournit, après pyrolyse, un mélange de collidines substituées en (2,3,4), (2,4,5) et (2,3,6). Ce nouveau mélange n'est pas fractionné ; il est soumis une nouvelle fois à l'action de l'iodure de méthyle : après chauffage à 300° C, on obtient uniquement la tétraméthyl-2,3,4,6-pyridine [2] que l'on oxyde en acide pyridine tétracarboxylique-2,3,4,6 [124]. Par chauffage avec l'acide acétique, une décarboxylation conduit à l'acide berbéronique (voir plus haut).

On peut enfin traiter la β-picoline par le sodium [322] et transformer le diméthyl-3,3'-dipyridyle-4,4' obtenu en acide cinchoméronique.



β-Picoline.

Dérivé sodé.

Diméthyl-3,3'-dipyridyle-4,4'.

B. — **Synthèse totale.**

Les préparations précédentes ont en commun un inconvénient majeur : celui de nécessiter comme matière première un produit possédant déjà le noyau pyridinique ; or de telles substances sont relativement rares sur le marché des produits chimiques et sont, de plus, très demandées à l'heure actuelle. Aussi a-t-on proposé des synthèses totales de l'isoniazide (ou

de l'acide *iso*nicotinique), qui peuvent partir soit de dérivés aliphatiques, soit de dérivés aromatiques. Elles entrent dans le cadre des nombreuses synthèses du noyau pyridinique [354].

1° Synthèse a partir de composés aliphatiques.

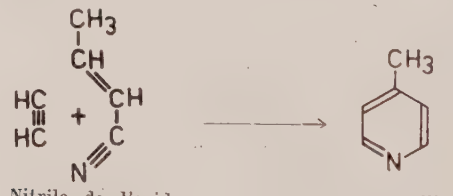
Nous examinerons successivement les préparations à partir des produits suivants :

— Acétylène,
— Acétoacétate d'éthyle,
— Acide pyruvique,
— β-Méthylbutyrolactone,
— Acide citrique,

dont l'importance pratique s'avère très inégale.

a) *Synthèse à partir de l'acétylène.*

Il est possible de synthétiser un précurseur important de l'acide *iso*nicotinique, la γ-picoline, à partir de l'acétylène. Dès 1876, Ramsay [311] avait obtenu des traces de pyridine en faisant passer, dans des tubes chauffés au rouge, un mélange d'acétylène et d'acide cyanhydrique. Reprenant cette réaction, Meyer [261, 262, 263] prépare un mélange de pyridine et de bases pyridiniques en chauffant simplement à une température supérieure à 600° C l'acétylène et l'ammoniaque. Tchitchibabine [353, 355], opérant en présence de catalyseurs, obtint dans des conditions analogues des mélanges assez riches en γ-picoline.

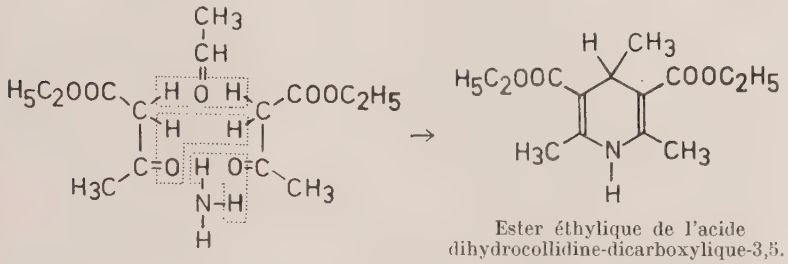


Nitrile de l'acide crotonique. γ-Picoline.

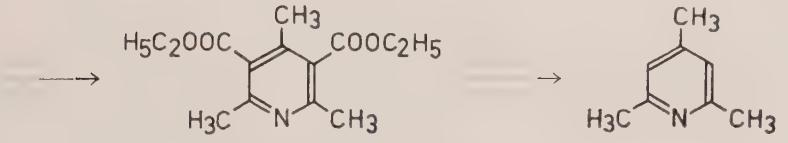
Une autre synthèse très voisine vient d'être proposée par Sah [322] : l'acétylène peut se condenser avec le nitrile de l'acide crotonique pour donner directement la γ-picoline ; on sait que ce nitrile, par l'intermédiaire de l'acétaldéhyde, de l'aldol, de l'aldéhyde crotonique, puis de l'amide crotonique, dérive également de l'acétylène.

b) *Synthèse à partir de l'acétoacétate d'éthyle.*

Cette préparation met en œuvre la synthèse classique du noyau pyridinique de Hantzsch [173]. Le chauffage de l'acétoacétate d'éthyle en présence d'éthanal et d'ammoniaque fournit facilement l'ester éthylique de l'acide dihydrocollidine-dicarboxylique-3,5, que l'on oxyde en triméthyl-2,4,6-dicarbéthoxy-3,5-pyridine. L'hydrolyse de cet ester est suivie d'une



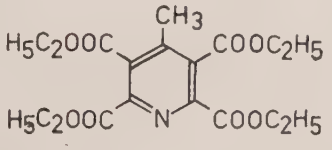
Ester éthylique de l'acide dihydrocollidine-dicarboxylique-3,5.



Triméthyl-2,4,6-dicarbéthoxy-3,5-pyridine.

Collidine-2,4,6.

décarboxylation qui conduit à la collidine symétrique. On oxyde enfin la triméthyl-2,4,6-pyridine en acide pyridine tricarboxylique-2,4,6 (acide trimésitinique) d'où l'on passe à l'acide *iso*nicotinique.

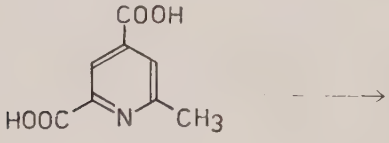


Méthyl-4-tétracarbéthoxy-2,3,5,6-pyridine.

Il convient de rattacher à cette préparation celle de Knoevenagel et Fries [208], dans laquelle l'acétoacétate d'éthyle est remplacé par le malonate d'éthyle, pour former la méthyl-4-tétracarbéthoxy-2,3,5,6-pyridine, que l'on décarboxyle en γ-picoline.

c) *Synthèse à partir de l'acide pyruvique.*

L'acide pyruvique, facilement accessible à partir de l'acide tartrique naturel, se condense très aisément avec l'ammoniaque pour donner l'acide uvitonique, ou acide méthyl-2-pyridine dicarboxylique-4,6 [42, 43] ; le chauffage de cet acide le transforme en acide méthyl-2-*iso*nicotinique [45, 46] qui, par l'intermédiaire de l'acide lutidinique, donne le produit recherché (voir plus haut).

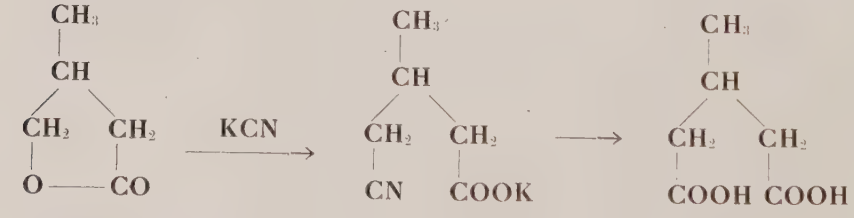


Acide uvitonique. Acide méthyl-2-*iso*nicotinique.

Notons que l'oxydation directe de l'acide uvitonique fournit quantitativement l'acide trimésitinique.

d) *Synthèse à partir de la β-méthylbutyrolactone.*

Cette synthèse, récemment mise au point par Pichat, Baret et Audinot [299], se prête tout particulièrement à l'obtention d'isoniazide marquée par ^{14}C au niveau du noyau pyridinique. La préparation est fondée sur les récents travaux de Crough et Lochte [86, 300], confirmés par Den Hertog et Farenhorst [147].



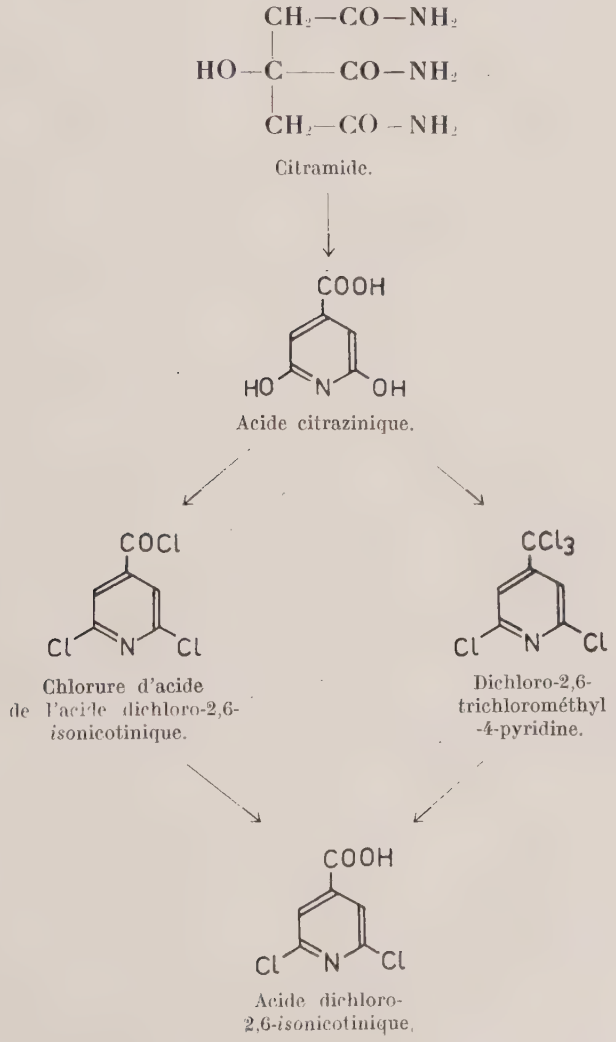
β-Méthylbutyrolactone. γ-Cyano-β-méthyl-butyrate de potassium. Acide β-méthyl-glutarique.

β-Méthylglutarimide. Trichloro-2,3,6-méthyl-4-pyridine.

La condensation du cyanure de potassium avec la β-méthylbutyrolactone donne le γ-cyano-β-méthylbutyrate de potassium que l'on transforme en acide β-méthylglutarique, puis en β-méthylglutarimide. Le traitement de cette dernière substance par le pentachlorure de phosphore donne la trichloro-2,3,6-méthyl-4-pyridine, déshalogénée par hydrogénation en γ-picoline, en présence de nickel Raney à la température ambiante.

e) *Synthèse à partir de l'acide citrique.*

Cette synthèse apparaît *a priori* particulièrement importante en raison du bon marché de la substance de base.



Par l'intermédiaire du citrate d'éthyle, on prépare la citramide ; cette triamide, chauffée dans l'acide sulfurique à 125-130° C, se cyclise en acide dihydroxy-2,6-*iso*nicotinique ou acide citrazinique [26]. L'acide citrazinique, en présence de PCl_5, donne le chlorure d'acide de l'acide dichloro-2,6-*iso*-nicotinique et la dichloro-2,6-trichlorométhyl-4-pyridine [338]. Ces deux produits sont hydrolysés par l'acide sulfurique en acide dichloro-2,6-*iso*nicotinique [26], qu'un traitement par l'acide iodhydrique réduit en acide *iso*nicotinique.

C'est à partir de l'acide citrique que Sah effectua, dès 1945 [322], la synthèse de l'hydrazide de l'acide *iso*nicotinique, dans son laboratoire de Pékin, en vue de déterminer son activité sur le *Mycobacterium tuberculosis :* le personnel technique chargé de cette investigation déclara avoir trouvé que l'hydrazide était capable d'amener une inhibition pratiquement complète de la pousse du germe à la concentration de 0,2 γ dans 10 cm^3 du milieu de culture ; ces résultats parurent à l'époque manifestement trop élevés pour ne pas être dus à une erreur de technique, ne furent pas publiés et l'étude de l'INH abandonnée.

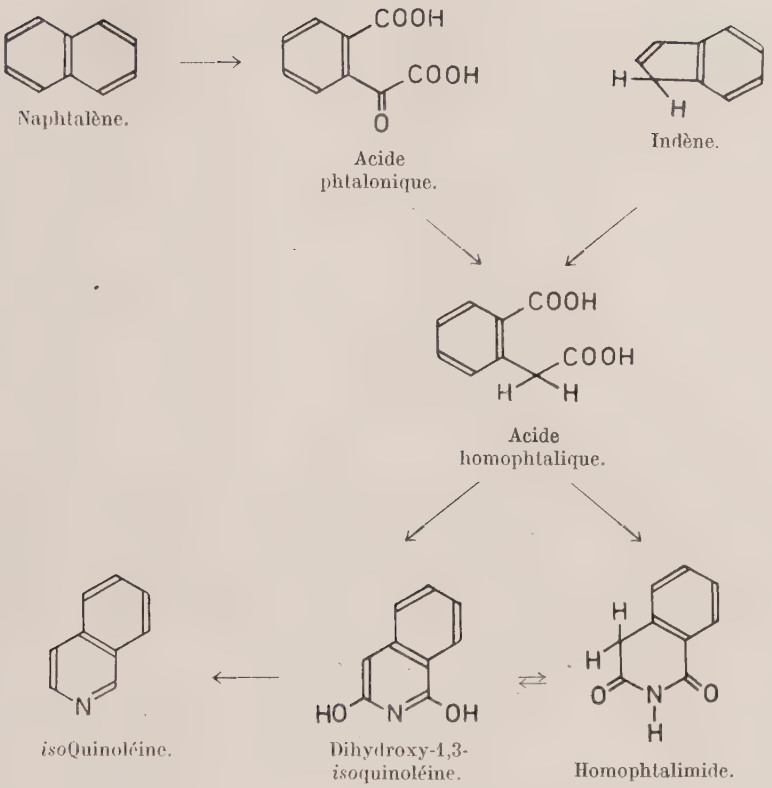
La préparation de l'isoniazide à partir de l'acide citrique a également été préconisée par Klosa [207].

2° Synthèse a partir de dérivés aromatiques.

Ces procédés se ramènent en définitive à effectuer la synthèse de l'*iso*quinoléine.

En partant du naphtalène, on prépare par oxydation permanganique l'acide phtalonique [160, 359], que l'on réduit en acide homophtalique [161]. Le sel d'ammonium de ce dernier produit, traité par l'acide acétique selon le procédé de Sah [320], se cyclise facilement en homophtalimide [140], forme d'équilibre de la dihydroxy-1,3-*iso*quinoléine. Une distillation en présence de poudre de zinc fournit enfin l'*iso*-quinoléine [219], que l'on oxyde en acide cinchoméronique.

L'acide homophtalique se prépare également par oxydation permanganique de l'indène [180].



Naphtalène. Acide phtalonique. Indène. Acide homophtalique. *iso*Quinoléine. Dihydroxy-1,3-*iso*quinoléine. Homophtalimide.

III. — QUELQUES CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DE L'ISONIAZIDE

L'hydrazide de l'acide *iso*nicotinique se présente comme une poudre blanche cristalline ; la cristallisation s'effectue sans incorporation de molécules de solvant et le poids moléculaire est de 137,13. Une étude cristallographique du tuberculostatique a été réalisée par JENSEN [198, 199] ; la maille renferme quatre molécules et ses paramètres sont les suivants :

a = 11,33 Å
b = 14,74 Å
c = 3,84 Å

De nombreux auteurs ont déterminé le point de fusion de l'INH ; nous avons relevé dans la littérature les renseignements suivants :

F = 168,5-170° C [129]
F = 171° C [285]
F = 169-170° C [258]
F = 171-173° C [68]
F = 169-171° C [67]
F = 170-171° C [55]
F = 170,5-171,5° C [282]
F = 168-169° C (non corr.)
171-172° C (corr.) [322]
F = 166-168° C [273]
F = 174° C [156]

On notera l'homogénéité des relevés effectués par ces différents chercheurs ; il est très probable que le point de fusion le plus bas (F = 163° C) rapporté par Meyer et Mally [260], qui, les premiers, firent la synthèse de l'INH, provient de la présence d'impuretés dans leur préparation ; la même remarque s'applique au point de fusion donné par Pichat et coll. (F = 160° C [299]).

Le tableau suivant (tableau I) fournit quelques renseignements sur la solubilité de l'INH dans différents solvants usuels.

Les solubilités données dans les solvants cétoniques :

Acétone ..... { 2 p. 100 à froid,
2,48 p. 100 à chaud,

Méthyléthylcétone ... { 4,42 p. 100 à froid,
4,78 p. 100 à chaud,

se rapportent plutôt aux *iso*nicotinylhydrazidones correspondantes et non pas à l'INH lui-même ; l'INH est pratiquement insoluble dans le benzène.

La solution aqueuse de l'hydrazide *iso*nicotinique est pratiquement neutre (*p*H voisin de 6,5). Albert [3] a montré, par électrotitration, l'existence de trois pK_a, de valeur :

$$pK_a^1 = 10{,}77,$$
$$pK_a^2 = 3{,}54,$$
$$pK_a^3 = 1{,}85,$$

TABLEAU I

Solubilité de l'isoniazide dans différents solvants.

Solvant	Solubilité (g p. 100)			Références
	à 21° ± 2° C (*)	à froid	à chaud	
Eau	10,8	11,5	250	[197] (**)
Tampon $pH = 7$ (***)	10,0			[197]
Tampon $pH = 4$ (***)	11,7			[197]
HCl 0,1 N	15,3			[197]
HCl N	24,0			[197]
Méthanol	3,0	2,78	20	[197] (**)
Ethanol à 95°	1,95	2,4	20	[197] (**)
*iso*Propanol	0,50			[197]
Ether sulfurique	< 0,001			[197]
Chloroforme	< 0,2	0,2	0,44	[197] (**)
Pyridine	1,70			[197]
Dichloro-1,2-éthane	0,03			[197]
Dichloro-1,1-éthane	< 0,22			[197]

(*) Après trente minutes d'agitation.
(**) Ces renseignements figurent dans une brochure éditée par les laboratoires Carlo Erba, Milan (Italie).
(***) Pharmacopée belge, quatrième édition.

qui correspondent respectivement au groupement acide :

$$\mathrm{Py{-}C(O^-){=}N{-}NH_2},$$

à l'atome d'azote pyridinique et au groupement terminal $-NH_2$ de la fonction hydrazide ; le premier de ces pK_a est difficile à déterminer ; aussi d'autres auteurs [71] n'ont-ils noté que deux inflexions sur les courbes d'électrotitration, traduisant l'existence de deux pK_b de valeur :

$$pK_{b^1} = 10{,}3,$$
$$pK_{b^2} = 12{,}2.$$

Le spectre d'absorption de l'INH en solution aqueuse laisse apparaître un maximum pour $\lambda = 262$ mμ et un minimum pour $\lambda = 227$ mμ [276]. Lorsqu'on acidifie le milieu, ces valeurs se déplacent légèrement et passent respectivement à 267 mμ et à 235 mμ en solution chlorhydrique 0,1 N [8, 247, 189] ; on note en même temps de petites modifications des coefficients d'extinction correspondant au maximum et au minimum d'absorption [197]. En milieu alcalin, un nouveau maximum apparaît pour $\lambda = 298$ mμ [157] ; cette bande d'absorption voisine de 300 mμ serait en rapport avec l'existence, dans la chaîne hydrazidique, d'un atome d'hydrogène libre au niveau de l'atome d'azote (N_1) sur lequel le groupement *iso*nicotinoyle est fixé [135].

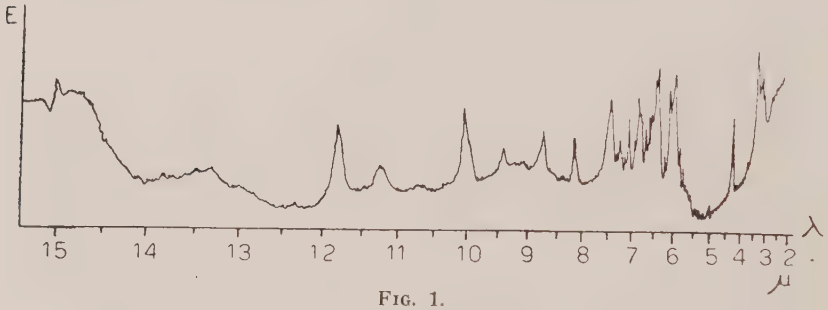


Fig. 1.

Spectre d'absorption infra-rouge de l'INH (d'après Mattu et Pirisi [248]).

On trouvera sur la fig. 1 le spectre d'absorption infra-rouge de l'INH, que nous empruntons à Mattu et Pirisi [248].

La chromatographie de l'INH peut s'effectuer dans un grand nombre de systèmes et nous avons réuni sur le tableau II la valeur des R*f* notés, en y joignant celles de différents composés pyridiniques substitués, comme l'INH, en position γ.

Les travaux concernant la mobilité électrophorétique de l'isoniazide apparaissent bien moins nombreux que les études chromatographiques. Cuthbertson et coll. [95] ont noté qu'en tampon phosphaté 0,05 M de *p*H = 6,5, le tuberculostatique reste au voisinage du point de dépôt du spot (appareil de Latner; papier Whatman n° 4 ou n° 1; 250 volts pendant quatre heures) ; la mobilité est plus importante en tampon phtalate acide de potassium 0,2 M de *p*H = 4 (120 volts pendant quinze heures). L'électrophorèse sur papier permet enfin une séparation aisée de l'INH et du PAS [346].

TABLEAU II

Rf DE DIFFÉRENTS COMPOSÉS

NATURE DE LA PHASE SOLVANTE	PAPIER	SENS	RÉF.
NH_4Cl 0,5 M	Whatman I	....	[4]
Ethanol/acide acétique 0,1 N (1 : 1)	.....	...	[382]
n-Propanol/eau (4 : 1)	Whatman I	Desc.	[94]
iso-Propanol/eau (85 : 15)	Whatman I	Asc.	[381]
iso-Propanol/eau (80 : 20)	Whatman I	Asc.	[234]
iso-Propanol/ammoniaque à 1 p. 100 (20 : 3)	Toyo n° 50	...	[243]
n-Butanol saturé d'eau	Whatman I	Desc.	94
n-Butanol saturé d'eau	Toyo n° 50	....	[243]
n-Butanol saturé d'eau	Whatman I	Asc.	[103]
Tampon phosphate M/50 *p*H = 7,4 saturé de *n*-butanol	Toyo n° 50	...	[243]
n-Butanol/acide acétique/eau (4 : 1 : 5)	Toyo n° 50	....	[243]
n-Butanol/acide acétique/eau (30 : 1 : 20)	Whatman I	Asc.	[329]
Ammoniaque à 1 p. 100 saturé de *n*-butanol	Toyo n° 5	....	[243]
n-Butanol/ammoniaque concentré/eau (30 : 1 : 20)	Whatman I	Asc.	[329]
n-Butanol saturé d'ammoniaque 0,5 N	.....	....	[188]
sec-Butanol saturé d'eau	.....	....	[224]
sec-Butanol/acide formique/eau (75 : 15 : 10)	.....	...	[31]
Alcool *iso*amylique/acide acétique/eau (50 : 1,5 : 50) (phase sup.)	Whatman I	....	[71]
Alcool *iso*amylique/acétone/acide acétique /eau (56 : 24 : 6 : 14)	.....	....	[224]
Alcool *tert*-amylique saturé de tampon acétate 0,2 M *p*H = 5,6	.....	....	[31]

(*) Le produit se dédouble au cours du développement chromatographique.

(**) Calculé sur le cliché de l'article.

VALEURS DES Rf
POUR DIFFÉRENTS COMPOSÉS PYRIDINIQUES γ-SUBSTITUÉS

Isonicotinylhydrazide	Hydrazidones *iso*-nicotiniques			Hydrazines *iso*nicotiniques					Acide *isonicotinique*	*Isonicotinamide*	*Isonicotinoyl*-glycocolle	DPN à INH
	Ac. pyruvique	Ac. α-cétoglutarique	Glycurono-lactone	N_2-acétyl	N_2-*isopropyl*	N_2-méthane-sulfonate	Diméthane-sulfonate	N_2-*iso*-nicotinoyl				
0,73	....	....	....	....	...	....	....	0,68	0,81	.....	....	....
0,74	....	....	....	....	....	....	...	....	....	....	....	0,40
0,62	....	..	..	....	0,91	....	...	..	0,40	0,72	0,33	....
0,66	0,20 0,52(*)	0,06	...	....	....	....	....	....	0,38	.....	0,22	....
0,94(**)	....	....	....	....	...	0,24	0,07	....	....	.....	....	....
.....	....	...	...	0,73	....	...	..	..	.....	.....	....	....
0,43	....	..	....	....	...	....	...	..	0,14	0,60	0,08	....
0,74	...	...	...	0,66	..	...	..	....	....	....	....	..
0,90	..	....	0,36	..	....	..	....	....	..	....	..	....
.....	....	....	....	0,57	....	...	....	....	....	....	....	....
.....	....	....	....	0,62	....	....	...	....	.....	.....	....	....
0,67	....	..	....	....	...	...	....	..	0,56	.....	....	....
.....	....	....	....	0,38	....	....	....	....	.....	....	....	....
0,52	....	....	....	....	..	....	....	....	0,20	.....	....	..
.....	....	....	....	....	..	....	....	....	0,25	.....	....	....
0,69-0,74	....	....	....	....	....	....	....	..	0,26-0,32	0,77-0,79	....	....
.....	....	....	....	....	....	..	....	....	0,65	.....	....	....
0,80	....	....	....	....	....	....	....	....	0,42	.....	....	....
0,64-0,67	....	....	....	....	....	..	....	....	0,50-0,54	0,54-0,66	....	....
.....	....	...	...	....	....	....	....	....	0,51	.....	....	....

DEUXIÈME PARTIE

RECHERCHES PERSONNELLES : QUELQUES ASPECTS DE LA RÉACTIVITÉ CHIMIQUE DE L'ISONIAZIDE

La haute efficacité de l'hydrazide de l'acide *iso*nicotinique apparaît en rapports étroits avec sa structure chimique ; de légères modifications de la molécule entraînent des modifications totales de son activité biologique : les hydrazides picolinique [29, 62, 129, 230] ou nicotinique [25, 29, 62, 67, 129, 244] n'inhibent que faiblement la croissance du BK. Le remplacement de l'atome d'azote hétérocyclique de l'INH par un atome de carbone conduit au benzhydrazide inactif [29, 129, 339] ; on observe également la disparition des propriétés tuberculostatiques par substitution [62, 129, 193, 251, 286, 380, 245, 117, 230, 194] ou réduction [285, 380, 131] du noyau pyridinique, comme par introduction d'un groupement méthyle sur l'atome d'azote N_1 de la chaîne hydrazinique [97, 134]. Cette spécificité d'action montre tout l'intérêt qui s'attache à l'étude de nouveaux dérivés de ce médicament si remarquable, qui apparaît en outre comme une substance de structure très simple. Nous rapportons dans les pages suivantes nos recherches expérimentales personnelles dans ce domaine.

Le premier chapitre de notre travail est consacré à l'action de différents acides sur l'INH ; on sait que la plupart des composés pyridiniques sont capables de retenir une molécule d'acide au niveau de l'atome d'azote hétérocyclique pour donner des sels de pyridinium. L'isoniazide n'échappe pas à cette règle et nous avons préparé et décrit de nombreux sels encore inédits. Au cours de nos investigations, nous avons effectué quelques remarques concernant plus particulièrement l'action de l'acide maléique et de certains acides halogénés qui donnent lieu à une réaction chromatique intéressante ; nous avons observé également que quelques acides favorisent l'oxydation du tuberculostatique.

Nous avons groupé dans le deuxième chapitre les recherches que nous avons effectuées sur l'interaction de l'isoniazide et de différents composés carbonylés : la chaîne hydrazidique possède des propriétés assez voisines de celles des hydrazines et l'INH donne avec divers aldéhydes et cétones des

*iso*nicotinylhydrazidones (*). Nous décrirons tout d'abord quelques nouvelles *iso*nicotinylhydrazidones, puis nous examinerons l'action sur l'INH de l'acide camphosulfonique, substance possédant à la fois un groupement cétonique capable de réagir avec la chaîne hydrazidique et un groupement acide susceptible de former un sel de pyridinium. Ce chapitre est complété par la relation de nos essais sur la réaction de l'INH avec les méthylpentoses, avec quelques substances dicarbonylées et enfin avec les quinones et quelques composés de structure quinonique.

Les propriétés réductrices des hydrazides sont bien connues et, dans le cas particulier de l'INH, souvent mises à profit pour la caractérisation et le dosage du tuberculostatique. Nous avons étudié en détail l'action de l'oxyde de sélénium sur l'isoniazide et sur quelques dérivés du tuberculostatique ; nous avons comparé à l'INH d'autres hydrazides et hydrazines ainsi qu'un grand nombre de composés plus ou moins apparentés à la fonction hydrazinique ; ces recherches sont consignées dans notre troisième et dernier chapitre.

(*) Le terme d'hydrazidone, proposé par Gautier et Pellerin [147], permet de mieux différencier les produits de combinaison hydrazides-composés carbonylés des hydrazones, qui résultent de l'union des hydrazines avec les mêmes composés carbonylés.

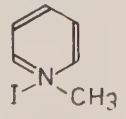
CHAPITRE PREMIER

RÉACTIONS DE L'ISONIAZIDE AVEC DIFFÉRENTS ACIDES : NOUVEAUX SELS MINÉRAUX ET ORGANIQUES D'ISONIAZIDE

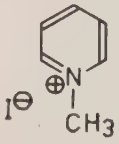
Il nous a paru utile, avant d'exposer le détail de nos travaux, de consacrer quelques lignes à la réactivité de l'atome d'azote des composés pyridiniques.

I. — BASES PYRIDINIUM

Lorsque nous avons examiné les différentes méthodes de synthèse de l'acide *iso*nicotinique, nous avons déjà signalé que différents halogénures d'alcoyle peuvent fournir avec la pyridine un produit d'addition ; le benzène ne donnant pas lieu à une réaction de ce type, il faut admettre que la fixation du composé halogéné, de l'iodure de méthyle par exemple, s'effectue au niveau de l'atome d'azote. Les premiers auteurs qui se sont penchés sur cette question ont admis l'existence d'une formule (I) dans laquelle l'atome d'azote serait pentavalent :



I



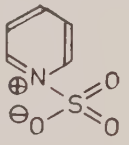
II

Iodure de méthylpyridinium.

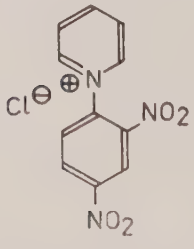
Nous ne pouvons plus admettre à l'heure actuelle cette représentation, incompatible avec les théories électroniques

modernes de la valence. On pense plutôt que, dans la molécule d'iodométhylate de pyridine, le groupement méthyle s'unit à l'azote hétérocyclique à la faveur de la paire d'électrons non partagée que possède ce dernier atome ; cette fixation entraîne donc l'existence d'une charge positive au niveau de l'atome d'azote, charge neutralisée par celle de l'ion iode. Le schéma II correspond donc à un sel, susceptible de s'ioniser. De tels dérivés constituent le groupe des « bases pyridinium » et des « sels de pyridinium ».

On explique de la même manière la fixation sur la pyridine des sulfates d'alcoyles ou des arylsulfonates d'alcoyles, qui fournissent, par exemple, le sulfate neutre de méthylpyridinium, le méthylsulfonate de méthylpyridinium ou le phénylsulfonate de méthylpyridinium. C'est encore au niveau de l'atome d'azote de la pyridine que se fixe l'anhydride sulfurique pour fournir un acide N-pyridiniumsulfonique [19, 20, 21, 24] auquel on peut attribuer une structure bétaïnique :

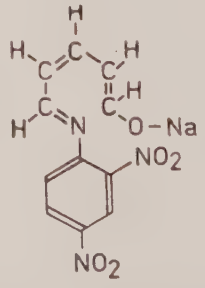


La surcharge de l'hétérocycle au niveau de l'atome d'azote n'est souvent que le prélude à la rupture complète du cycle : le chloro-1-dinitro-2,4-benzène [149, 383] réagit tout d'abord sur la pyridine pour fournir un chlorure de dinitrophénylpyridinium, mais cette substance, en milieu basique, conduit au sel sodique de la dinitroanile de l'aldéhyde glutaconique.



Chlorure de dinitrophénylpyridinium.

NaOH →

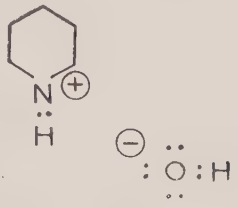


Sel sodique de la dinitroanile de l'aldéhyde glutaconique.

L'action du bromure de cyanogène [209] est tout à fait super-

posable et conduit également à des dérivés de l'aldéhyde glutaconique. Remarquons que la réaction inverse est possible : Baumgarten [17, 18, 22, 23] a proposé une élégante synthèse de la pyridine qui consiste à chauffer simplement l'aldéhyde glutaconique avec de l'ammoniac.

Cette notion de « base pyridinium » permet également de bien comprendre la légère alcalinité que manifestent en solution aqueuse les composés pyridiniques : le *p*H d'une solution aqueuse de pyridine 0,1 N, par exemple, est voisin de 9 et la substance hétérocyclique, qui bleuit faiblement le tournesol, peut être titrée en présence de méthylorange. Il faut admettre que l'atome d'azote fixe un ion hydrogène libéré par la dissociation de l'eau, et la structure de la pyridine, en solution aqueuse, peut être représentée par le schéma ci-dessous :



La formation des N-oxydes des composés pyridiniques, enfin, découle également de l'existence d'une paire d'électrons libres sur le N hétérocyclique ; l'atome d'oxygène peut ainsi compléter l'octet électronique en formant une liaison de covalence.

II. — RÉACTIONS DU NOYAU PYRIDINIQUE DANS L'ISONIAZIDE

Toutes les réactions précédentes se retrouvent dans la molécule d'isoniazide, en raison de la réactivité de son azote hétérocyclique.

L'iodure de méthyle peut réagir directement sur l'INH pour donner l'iodométhylate correspondant [62, 73], mais la préparation s'effectue cependant avec un meilleur rendement en traitant l'iodométhylate de l'*iso*nicotinate d'éthyle par l'hydrate d'hydrazine [380, 251, 30]. Lespagnol et coll. [222] ont obtenu, par action directe des halogénures correspondants, un chlorobenzylate et un bromocétylate de dérivés de l'INH. Mattu et Pirisi [247] ont signalé l'obtention de réac-

tions colorées avec différents composés halogénés (chloroformiate d'éthyle, α-α'-dichloro*iso*propanol, épichlorhydrine, chloracétate d'éthyle, bromure d'allyle, bromocamphre, *o*-chloronitrobenzène, chlorure de *p*-nitrobenzoyle, iodure de méthylène), mais ces auteurs pensent que la fixation du produit halogéné s'effectue par le groupement terminal $-NH_2$ de la fonction hydrazidique.

L'action du bromure de cyanogène sur l'isoniazide permet la caractérisation et le dosage du tuberculostatique [143, 8, 100, 144, 151, 152, 247, 271, 317, 102, 156, 347] et sa localisation sur les chromatogrammes [68, 94, 95, 223, 101, 224, 234, 381]. La réaction avec le chloro-1-dinitro-2,4-benzène a fait également l'objet d'applications analytiques [143, 8, 13, 144, 151, 317, 332, 335, 379, 102, 156, 304]. La révélation du médicament sur les chromatogrammes peut également être effectuée par le chlorure de picryle ou le fluoro-1-dinitro-2,4-benzène [95].

Un certain nombre de sels d'isoniazide ont été isolés ou parfois simplement signalés.

Parmi les sels minéraux, le chlorhydrate (F = 300° C) est décrit dans le travail initial de Meyer et Mally [260] ; l'addition d'HCl à une solution aqueuse d'INH entraîne l'apparition d'une couleur jaune tant que l'on reste au voisinage de la neutralité ; cette teinte disparaît pour HCl = 2 N [119] : la formation d'un sel est confirmée par les modifications du spectre d'absorption que nous avons déjà signalées [8, 379].

L'iodure [6], le sulfate [74], le phosphate [74] et le perchlorate [336] d'INH n'ont fait l'objet que de très brèves mentions.

Les sels organiques de l'isoniazide sont plus nombreux : le *p*-aminosalicylate est très employé en France dans le traitement de la tuberculose [217, 210]. Nous avons réuni ci-dessous ceux dont nous avons trouvé mention dans la littérature ; la plupart d'entre eux ont été réalisés d'une part par Charonnat et Boime, d'autre part par Neuzil et Segonne.

Acides aliphatiques	F, °C	Réf.
Acide oxalique	—	[73]
Méthionine (*)	227-230 déc.	[380]

(*) L'existence de ce sel a été mise en doute par Segonne [336] qui n'a pu obtenir de sels avec les acides glutamique et aspartique. Charonnat et Boime [74] n'ont pas été plus heureux avec le glycocolle.

Acides aromatiques carboxyliques	F, °C	Réf.
Acide salicylique	146	[73]
— hydroxy-3-benzoïque	—	[73]
— hydroxy-4-benzoïque	157-158	[336, 281]
— amino-2-benzoïque	104	[73]
— amino-3-benzoïque	127	[73]
— amino-4-benzoïque	129	[73]
— amino-4-salicylique	142-143	[380]
	174,5	[74]
— gentisique	185	[73]
— résorcylique	222-223	[336, 281]
— cinnamique	131	[280bis, 336, 281]
— *o*-phtalique	151	[280bis, 336, 281]
Acides aromatiques sulfoniques		
Acide benzène sulfonique, $\frac{1}{2}H_2O$.	162-163	[280bis, 336, 281]
— *p*-toluène sulfonique	169-170	[380]
— sulfo-5-salicylique, $1\,H_2O$.	260	[280bis, 336, 281]
— naphtalène sulfonique-2, $1\,H_2O$	257	[336, 281]
Composés nitrés		
Acide dinitro-2,5-benzoïque	152	[280bis, 336, 281]
— dinitro-3,5-benzoïque	167	[336, 281]
— dinitro-2,4-benzoïque	—	[336]
— dinitro-3,5-salicylique	185	[336]
— *m*-nitrobenzène sulfonique	260	[336, 281]
— nitro-3-phtalique	189	[336]
— picrique	—	[108, 8, 246, 156]
— picrolonique	—	[108, 156]
— flavianique	—	[368]
Divers		
Acide cholique	—	[73]
— déhydrocholique	—	[73]
— ascorbique	109-111	[318]

L'atome d'azote hétérocyclique permet la titration de l'isoniazide par l'acide perchlorique au sein de l'acide acétique glacial [335, 202, 235].

L'existence dans l'isoniazide d'une chaîne hydrazidique va parfois interférer avec les possibilités de réaction au niveau de l'atome d'azote hétérocyclique. Le N-oxyde de l'INH, par exemple, ne peut s'obtenir par action directe d'un peracide sur le tuberculostatique ; aussi le prépare-t-on en chauffant l'hydrate d'hydrazine avec le N-oxyde de l'isonicotinate d'éthyle [83, 380]. De même, de nombreux acides minéraux ne fournissent pas de sels avec l'INH, mais sont au contraire réduits par le médicament : c'est ce que l'on observe avec

l'acide iodique [369], l'acide tungstique [369] et l'acide molybdique [347,369] ; toutefois les acides phosphomolybdique [295, 102], phosphotungstique [317, 102, 202], phosphotungstomolybdique [317], sulfomolybdique [317] et silicotungstique [102] ne sont réduits qu'à chaud par l'isoniazide qu'ils précipitent à froid, en donnant vraisemblablement le sel correspondant.

III. — NOUVEAUX SELS MINÉRAUX D'ISONIAZIDE

Des rares sels minéraux d'INH connus, seul le chlorhydrate a fait l'objet d'une analyse : Meyer et Mally [260] ont montré qu'il correspond à la formule :

$$C_6H_7ON_3,\ 2\ HCl.$$

Si l'une des molécules d'acide est retenue au niveau de l'azote pyridinique, il est probable que la seconde se fixe à l'autre extrémité de la molécule, au niveau de la chaîne hydrazidique. L'INH se comporterait ainsi comme un composé dibasique. Il semble qu'il s'agisse, avec le chlorhydrate, d'un cas particulier car, pour la totalité des sels que nous avons préparés avec des monoacides, une molécule du tuberculostatique a réagi avec un seul équivalent d'acide. Le comportement des polyacides est plus variable.

1° Bromure de γ-carboxyhydrazide pyridinium (bromhydrate d'isoniazide)

Lorsqu'on verse progressivement une solution aqueuse d'acide bromhydrique à 40 p. 100 sur de l'INH, on observe que le tuberculostatique se dissout très facilement, en donnant une solution fortement colorée en jaune ; si l'on continue l'addition d'HBr, la coloration disparaît à peu près complètement. La solution :

INH ..... 2 g
BrH à 40 p. 100 ..... 10 cm³

ne précipite pas à la glacière : la solubilité du bromhydrate d'INH est donc supérieure à celle de l'hydrazide seul (v. p. 29) ; cette solution, mise à l'exsiccateur, laisse bientôt déposer de beaux cristaux blancs que l'on recristallise à deux reprises dans l'alcool à 95°.

Le produit obtenu jaunit vers 185° C et fond à 255° C.

Il présente une légère fluorescence mauve en lumière ultra-violette.

L'analyse, après dessication sous vide sur P_2O_5, a été pratiquée par simple acidimétrie.

Analyse :

$C_6H_7ON_3$, BrH (PM = 210,05 ; F = 255° C).

Prise d'essai : 209,08 mg, soit 0,9588 mM

NaOH 0,4 N .....) Calculé : 2,39 cm³.
) Trouvé : 2,38 cm³.

On remarquera qu'ici, contrairement au chlorhydrate, une seule molécule d'acide s'unit à une molécule d'INH. Ceci provient vraisemblablement du plus grand encombrement introduit par l'ion brome dans le réseau cristallin du composé.

Chromatographie. — Nous avons soumis ce sel à la chromatographie sur papier. Nous avons utilisé à cet effet la technique ascendante ; les spots, de 5 mm³, renferment 10 γ du produit ; on enlève le chromatogramme lorsque le front du solvant a parcouru une distance de 30-35 cm, mesurés à partir de la ligne de dépôt des spots ; la température était voisine de 24° C dans toutes nos expériences ; deux phases solvantes différentes ont été employées :

— NH_4Cl 0,5 N ; papier Whatman n° 1 [4].

— NaCl 30 g p. 1000; papier Schleicher et Schüll n° 2043 b.

Les composés pyridiniques sont révélés, après séchage à l'air du chromatogramme, en déposant pendant trente minutes la feuille de papier dans une enceinte close renfermant des vapeurs de bromure de cyanogène (*) ; cette opération est immédiatement suivie d'un traitement aux vapeurs d'ammoniaque (quinze minutes). Le chromatogramme est examiné à la lumière ordinaire et à la lumière ultra-violette.

La chromatographie nous a permis de constater que le bromhydrate d'isoniazide se comporte exactement comme le spot témoin d'INH, fournissant un spot possédant les caractéristiques suivantes :

— Fluorescence bleue ;

— $Rf = 0,78 \pm 0,02$ (**), avec NH_4Cl 0,5 N;

— $Rf = 0,75 \pm 0,02$, avec NaCl 30 g p. 1000.

(*) Il suffit d'ouvrir dans l'enceinte un flacon contenant du bromure de cyanogène cristallisé.

(**) Notre chiffre est légèrement supérieur au $Rf = 0.73$ donné par Albert et Rees [4] ; ceci provient vraisemblablement ou de la température plus élevée à laquelle nous travaillons, ou bien de l'emploi d'une phase solvante descendante par les chercheurs anglo-saxons.

Il semble donc que ce sel subisse une dissociation au cours de la chromatographie. Nos résultats sont à rapprocher de ceux de Sabon et Monnet [319] qui observent également la dissociation des styphnates ou des picrates d'alcaloïdes au cours de la chromatographie sur papier. Le comportement chromatographique des sels d'INH va donc constituer pour nous un précieux moyen d'estimation de l'homogénéité de nos préparations.

2° Iodure de γ-carboxyhydrazide pyridinium (iodhydrate d'isoniazide)

L'addition de 2 cm³ d'acide iodhydrique à 57 p. 100 à 20 cm³ d'une solution d'isoniazide à 10 p. 100 entraîne rapidement l'apparition d'un abondant précipité jaune, déjà signalé par Amelinck [6] comme procédé de diagnose microcristalloscopique du tuberculostatique.

Nous avons recueilli le précipité, qui a été recristallisé dans de l'éthanol à 50° ; il se présente alors sous la forme de petits bâtonnets jaune vif (F = 270° C), peu solubles dans l'alcool, solubles dans l'eau.

L'analyse acidimétrique et la chromatographie nous ont indiqué l'identité et confirmé la pureté du produit.

Analyse :

$C_6H_7ON_3$, IH (PM = 265,05 ; F = 270° C)

Prise d'essai : 148,6 mg, soit 0,5606 mM

NaOH 0,4 N ..... { Calculé : 1,401 cm³. Trouvé : 1,39 cm³.

Notons que ce sel est un monoiodhydrate ; il apparaît donc très voisin du précédent.

3° Action de l'acide fluorhydrique sur l'INH

La préparation d'un fluorhydrate d'INH nous a semblé intéressante, non seulement pour compléter cette série de sels d'hydracides, mais surtout pour savoir si l'on obtiendrait le composé INH, FH ou le sel INH, 2 FH.

A une solution aqueuse d'INH à 10 p. 100, placée dans une capsule de platine, nous avons ajouté progressivement une solution d'acide fluorhydrique à 40 p. 100 (d = 1,14) ; on note d'abord l'apparition d'une coloration jaune, qui

diminue rapidement lorsqu'on augmente la quantité d'acide ; aucun précipité n'apparaît les jours suivants, même en glacière. On laisse alors s'évaporer lentement la solution, enfermée dans une boîte en matière plastique renfermant des pastilles de potasse.

Au bout de deux semaines, on note que le résidu est sec, mais n'est pas homogène ; de couleur jaune, il renferme quelques points rouges. Repris par l'alcool bouillant, il cède à ce solvant un produit qui recristallise sous forme d'une poudre jaune (A), tandis que d'abondants cristaux blancs (B) restent dans la capsule.

La poudre A, soluble dans l'eau, est très acide, et les résultats de l'analyse acidimétrique, complétés par une électrotitration, nous montrent une acidité nettement supérieure à celle du composé INH, 2 FH ; la chromatographie révèle, en plus du spot de l'INH, celui du bis-*iso*nicotinylhydrazide ; ce dernier spot présente les caractéristiques ci-dessous :

— Fluorescence jaune en lumière ultra-violette, après traitement par le bromure de cyanogène et l'ammoniaque ;

— $Rf = 0{,}72 \pm 0{,}02$, avec NH_4Cl 0,5 N ;

— $Rf = 0{,}66 \pm 0{,}01$, avec NaCl 30 g p. 1000.

Afin d'obtenir un spot de référence pour le bis-*iso*nicotinylhydrazide (ou bis-INH, voir formule p. 10), nous avons préparé ce produit en effectuant une oxydation ménagée de l'isoniazide par l'oxyde jaune de mercure [380, 4]. Ainsi, à côté d'un probable fluorhydrate, la poudre A renferme des proportions importantes d'un produit d'oxydation de l'isoniazide (qui se trouve peut-être d'ailleurs sous la forme de fluorhydrate de bis-*iso*nicotinylhydrazide) ; les cristaux blancs B, peu hydrosolubles, ne révèlent qu'une acidité très faible et s'identifient totalement par la chromatographie au bis-*iso*nicotinylhydrazide.

Nous aurons l'occasion de retrouver plus loin des résultats voisins : le bis-INH se forme lorsqu'on laisse longtemps en présence d'air une solution acide d'isoniazide. Il semble donc que l'oxydation spontanée de l'INH soit favorisée en milieu acide.

4° Sulfate de γ-carboxyhydrazide pyridinium (sulfate d'isoniazide)

Il s'obtient très facilement en laissant s'évaporer des solutions aqueuses concentrées d'INH (10 p. 100), préalablement

acidifiées. Les cristaux blancs, antérieurement signalés par Charonnat et Boime [73], mais non analysés, sont recristallisés en milieu hydro-alcoolique ; ce sel, très hydrosoluble, ne fournit qu'un spot à la chromatographie. L'analyse acidimétrique nous montre qu'il s'agit d'un sulfate acide.

Analyse :

$C_6H_7ON_3$, SO_4H_2 (PM = 235,25)

Prise d'essai : 195,87 mg, soit 0,8326 mM

NaOH 0,4 N ..... { Calculé : 4,14 cm³. Trouvé : 4,15 cm³.

Il est donc vraisemblable que, dans l'agencement cristallin obtenu, l'acide sulfurique forme le lien entre deux molécules d'INH, lié à l'atome d'azote hétérocyclique de l'une et à l'N hydrazidique de l'autre.

5° Phosphate de γ-carboxyhydrazide pyridinium (*)
(phosphate d'isoniazide)

Ce sel est obtenu en ajoutant goutte à goutte de l'acide phosphorique à 85 p. 100 (d = 1,71) à une solution aqueuse chaude d'INH à 20 p. 100 ; dès les premières gouttes, on note une coloration jaune et, après addition de 0,5 cm³ d'acide, on obtient un abondant précipité blanc que l'on recueille ; le filtrat ne précipite plus par addition ultérieure d'acide phosphorique.

Le précipité cristallin est lavé à l'alcool, séché sous vide phosphorique et analysé ; le virage de la phénolphtaléine étant peu net, on confirme le résultat par électrotitration.

Analyse :

$C_6H_7ON_3$, PO_4H_3, $\frac{1}{2}H_2O$ (PM = 244,13 ; F = 240° C, déc.)

Prise d'essai : 318,57 mg, soit 1,304 mM

NaOH 0,4 N ..... { Calculé : 6,52 cm³. Trouvé : 6,58 cm³.

Ici encore il s'agit d'un sel acide ; il ne donne qu'un spot à l'analyse chromatographique.

(*) Un phosphate cristallin a été obtenu [73], mais non analysé.

6° Arséniate de γ-carboxyhydrazide pyridinium
(arséniate d'isoniazide)

Nous l'avons préparé en versant dans une solution aqueuse d'INH à 10 p. 100 une solution saturée d'acide arsénique du commerce, préalablement décolorée sur charbon.

On observe un jaunissement, puis un louche qui se transforme bientôt en un joli précipité cristallin, soluble dans l'eau, insoluble dans l'alcool, que l'on recristallise dans l'alcool à 50° ; les paillettes blanches obtenues se décomposent à 150° C.

L'analyse nous apprend que notre arséniate est strictement superposable au phosphate précédent, puisqu'il s'agit aussi d'un sel acide légèrement hydraté ; il se dissocie en INH au cours de la chromatographie.

Analyse :

$C_6H_7ON_3$, AsO_4H_3, $\frac{1}{2}H_2O$ (PM = 297,07 ; déc. = 150° C).

Prise d'essai : 165,96 mg, soit 0,5761 mM

NaOH 0,4 N ..... { Calculé : 2,88 cm³. / Trouvé : 2,90 cm³.

7° Action de l'acide borique

Nous n'avons pu obtenir le sel recherché ; en présence d'acide borique, l'INH recristallise sans entraîner avec lui le composé minéral.

IV. — NOUVEAUX SELS ORGANIQUES D'ISONIAZIDE

A. — Sels d'acides aliphatiques polycarboxyliques.

1° Oxalate de γ-carboxyhydrazide pyridinium
(oxalate d'isoniazide)

La dissolution dans 25 cm³ d'eau chaude de 20 mM d'INH et de 20 mM d'acide oxalique s'accompagne de l'apparition d'une belle coloration jaune ; un abondant précipité blanc se produit rapidement, tandis que le liquide surnageant se décolore. Le précipité est constitué de paillettes blanches qu'on l'essai acidimétrique nous prouve qu'il s'agit d'un sel acide. lave à l'eau glacée et que l'on sèche en vue de l'analyse ;

Analyse :

$C_6H_7ON_3$, $C_2H_2O_4$ (PM = 227,16 ; F = 222° C, déc.).

Prise d'essai : 154,61 mg, soit 0,6806 mM

NaOH 0,4 N ..... { Calculé : 3,403 cm³. Trouvé : 3,39 cm³.

La chromatographie du produit montre un spot unique.

Cet oxalate, signalé mais non analysé [73], est soluble dans l'eau, surtout à chaud, et pratiquement insoluble dans l'alcool. Le mélange de solutions alcooliques d'INH et d'acide oxalique précipite instantanément, tandis que le liquide surnageant reste coloré en jaune. Le produit obtenu en milieu purement alcoolique ne possède pas le même degré de pureté que celui préparé en phase aqueuse, comme le montrent les analyses ci-dessous.

Analyses :

$C_6H_7ON_3$, $C_2H_2O_4$ (PM = 227,16 ; F = 232°C, déc.).

Prise d'essai : 180,68 mg, soit 0,7927 mM

NaOH 0,4 N ..... { Calculé : 3,96 cm³. Trouvé : 3,81 cm³.

	% C	% H	% N
	—	—	—
Calculé	42,29	3,99	18,49
Trouvé	42,44	4,51	17,55
	42,20	4,01	16,99

2° Malonate de γ-carboxyhydrazide pyridinium
(malonate d'isoniazide)

Ce sel est obtenu en laissant refroidir la solution suivante :

INH	20 mM
Acide malonique	20 mM
Alcool à 95°	50 cm³

Cette solution, colorée en jaune, fournit au bout de quelques heures un abondant précipité blanc, qui apparaît au microscope formé de grosses branches ramifiées. On le lave à l'alcool glacé. Les cristaux apparaissent légèrement fluorescents en lumière ultra-violette.

Analyse :

2 $C_6H_7ON_3$, $C_3H_4O_4$ (PM = 378,32 ; F = 153° C).

Prise d'essai : 230,86 mg, soit 0,6102 mM

NaOH 0,4 N ..... { Calculé : 3,051 cm³. / Trouvé : 3,05 cm³.

Le malonate est homogène à la chromatographie. Remarquons que le produit préparé est un sel neutre, tandis que l'acide oxalique nous a conduite à un sel acide ; cependant l'acide malonique est un acide bien moins fort que l'acide oxalique ; nous retrouverons à plusieurs reprises des résultats analogues au cours de l'exposé de notre travail.

Le malonate est un sel très hydrosoluble ; les essais de préparation en milieu aqueux ne nous ont pas donné de bons résultats : les solutions, même en glacière, ne fournissent que très tardivement un précipité que la chromatographie nous a permis d'identifier au bis-*iso*nicotinylhydrazide. La grande solubilité dans l'eau du malonate est probablement la cause de l'échec de Segonne [336] dans la préparation de ce composé.

3° Succinate de γ-carboxyhydrazide pyridinium (succinate d'isoniazide)

La préparation de ce sel est calquée sur la précédente. A partir de l'alcool on obtient de beaux cristaux blancs, constitués par le sel neutre ; on obtient des cristaux très voisins en travaillant en phase aqueuse.

Analyses :

2 $C_6H_7ON_3$, $C_4H_6O_4$ (PM = 392,35 ; F = 138° C).

a) Produit obtenu dans l'alcool :

Prise d'essai : 196,54 mg, soit 0,5 mM

NaOH 0,4 N ..... { Calculé : 2,50 cm³. / Trouvé : 2,48 cm³.

b) Produit obtenu dans l'eau :

Prise d'essai : 174,37 mg, soit 0,44 mM

NaOH 0,4 N ..... { Calculé : 2,22 cm³. / Trouvé : 2,22 cm³.

Les deux préparations du sel neutre sont homogènes à l'examen chromatographique.

4° Malate de γ-carboxyhydrazide pyridinium
(malate d'isoniazide)

L'acide malique se comporte exactement comme l'acide malonique : obtention facile d'un sel neutre en milieu alcoolique ; précipitation tardive de bis-*iso*nicotinylhydrazide en phase aqueuse.

Analyse :

2 $C_6H_7ON_3$, $C_4H_6O_5$ (PM = 408,35 ; F = 118°C).

Prise d'essai : 205,54 mg, soit 0,5033 mM

NaOH 0,4 N ..... { Calculé : 2,516 cm³. Trouvé : 2,51 cm³.

5° Tartrate de γ-carboxyhydrazide pyridinium
(D-tartrate d'isoniazide)

Comme le succinate, le D-tartrate se prépare aussi bien en milieu aqueux qu'en milieu alcoolique ; la précipitation du sel est lente en phase aqueuse et fournit de gros cristaux ; dans l'alcool au contraire l'insolubilisation du sel est instantanée.

Analyses :

$C_6H_7ON_3$, $C_4H_6O_6$ (PM = 287,22 ; F = 175° C)

a) Produit obtenu dans l'alcool :

Prise d'essai : 179,59 mg, soit 0,625 mM

NaOH 0,4 N ..... { Calculé : 3,125 cm³. Trouvé : 3,12 cm³.

b) Produit obtenu dans l'eau :

Prise d'essai : 188,69 mg, soit 0,656 mM

NaOH 0,4 N ..... { Calculé : 3,28 cm³. Trouvé : 3,26 cm³.

6° Fumarate de γ-carboxyhydrazide pyridinium
(fumarate d'isoniazide)

On dissout à chaud dans 50 cm³ d'éthanol à 90°, 20 mM d'INH et d'acide fumarique ; la solution jaune clair obtenue fournit en se refroidissant un abondant précipité blanc pulvérulent, souillé de quelques rares cristaux jaunâtres, plus gros, que l'on élimine mécaniquement.

Le précipité blanc, homogène à la chromatographie, est constitué par un sel neutre légèrement hydraté.

Analyse :

2 $C_6H_7ON_3$, $C_4H_4O_4$, $1H_2O$ (PM = 387,27 ; F = 194° C).

Prise d'essai : 209,41 mg, soit 0,5407 mM

NaOH 0,4 N ..... { Calculé : 2,70 cm³. Trouvé : 2,70 cm³.

Comme l'acide fumarique cristallise anhydre, nous pensons que la molécule d'eau d'hydratation a été fournie par l'éthanol utilisé, dont le titre n'est que de 90°.

7° Adipate de γ-carboxyhydrazide pyridinium (adipate d'isoniazide)

Il s'agit d'un sel neutre, dont les cristaux blancs possèdent une belle fluorescence bleu clair ; on le prépare facilement au sein de l'alcool ; il donne un spot unique, par chromatographie avec NH_4Cl 0,5 N.

Analyse :

2 $C_6H_7ON_3$, $C_6H_{10}O_4$ (PM = 420,4 ; F = 134° C).

Prise d'essai : 170,61 mg, soit 0,4058 mM

NaOH 0,4 N ..... { Calculé : 2,029 cm³. Trouvé : 2,03 cm³.

8° Citrate de γ-carboxyhydrazide pyridinium (citrate d'isoniazide)

Le citrate est préparé dans l'alcool selon notre protocole habituel (INH, 20 mM ; acide, 20 mM ; alcool à 90°, 50 cm³). La précipitation du sel ne s'effectue qu'en glacière et très lentement; on obtient, après plusieurs jours, des masses sphéroïdes blanc-crème, extrêmement dures, que l'on recueille et que nous lavons à l'eau glacée. Les cristaux présentent une faible fluorescence mauve-rosée.

Il s'agit d'un sel acide, homogène à la chromatographie, légèrement hydraté.

Analyses :

$C_6H_7ON_3$, $C_6H_8O_7$, H_2O (PM = 347,27 ; F = 152° C).

Prise d'essai : 183,47 mg, soit 0,5283 mM

NaOH 0,4 N ..... { Calculé : 3,96 cm³. Trouvé : 4,00 cm³.

Prise d'essai : 238,14 mg, soit 0,6857 mM

NaOH 0,4 N ..... { Calculé : 5,18 cm³. Trouvé : 5,14 cm³.

L'eau de cristallisation existe au départ dans l'acide citrique.

Les essais de préparation en phase aqueuse ne donnent aucun précipité immédiat ; on obtient tardivement l'insolubilisation de bis-*iso*nicotinoylhydrazide.

9° Obtention de sels cristallisés d'isoniazide et force des acides mis en jeu.

On aurait pu penser que l'obtention d'un sel neutre serait réalisée de préférence avec les acides dont la constante de dissociation de la deuxième fonction acide est la plus élevée.

Comme le montre l'examen du tableau ci-dessous (ta-

TABLEAU III

Constante de dissociation de différents acides aliphatiques polycarboxyliques.

Acide	K_1	K_2	K_3	Sel obtenu avec l'INH	Réf.
Oxalique....	$6,5 \times 10^{-2}$	$6,1 \times 10^{-5}$	»	Acide	[183]
Malonique..	$1,64 \times 10^{-2}$	$2,1 \times 10^{-6}$	»	Neutre	[183]
Succinique..	$6,6 \times 10^{-5}$	$2,8 \times 10^{-6}$	»	Neutre	[183]
Malique.....	4×10^{-4}	9×10^{-6}	»	Neutre	[183]
Tartrique...	$1,1 \times 10^{-3}$	$6,9 \times 10^{-5}$	»	Acide	[183]
Fumarique..	1×10^{-3}	3×10^{-5}	»	Neutre	[183]
Adipique...	$3,82 \times 10^{-5}$	$1,8 \times 10^{-6}$	»	Neutre	[328]
Citrique....	$8,4 \times 10^{-4}$	$1,8 \times 10^{-5}$	4×10^{-6}	Acide	[183]

bleau III), il n'en est rien ; parmi les quatre acides les plus forts (acides oxalique, tartrique, fumarique et citrique), seul l'acide fumarique permet de recueillir un sel de structure : 2 INH, 1 acide. L'obtention, sous forme cristalline, du sel acide ou du sel neutre doit être plutôt réglée par des considérations géométriques, telles que l'empilement dans un édifice cristallin de molécules de dimensions déterminées. L'hydratation des cristaux, en dehors des phénomènes d'affinité pour l'eau des groupements chimiques existant sur les molécules en présence, doit également dépendre de l'existence éventuelle de « trous » de dimensions convenables dans l'édifice cristallin.

10° Action de l'acide maléique sur l'isoniazide.

Nous avons séparé dans notre texte l'acide maléique des autres acides en raison de la réactivité particulière de l'INH vis-à-vis de ce diacide éthénique. Nous avons cherché à préparer le sel dans l'alcool, selon notre protocole habituel. Dès le mélange des solutions, on note une forte coloration jaune et, après refroidissement, l'insolubilisation d'un précipité jaune vif ; si on laisse encore reposer le mélange vingt-quatre heures, on constate qu'un fin précipité jaune très pâle vient se superposer au premier précipité jaune. Nous avons recueilli le précipité jaune deux heures après la réalisation du mélange, c'est-à-dire à un moment où ce précipité n'est certainement pas contaminé par le deuxième produit ; lavé à l'alcool froid, séché et soumis à l'analyse, le précipité jaune se révèle être un maléate acide d'INH, homogène sur les chromatogrammes.

Analyse :

$C_6H_7ON_3$, $C_4H_4O_4$ (PM = 253,20).

Prise d'essai : 195,19 mg, soit 0,7708 mM

NaOH 0,4 N..... { Calculé : 3,85 cm³. / Trouvé : 3,84 cm³.

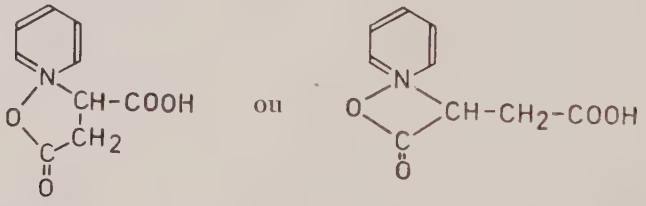
Ce sel acide doit-il être considéré comme un maléate de γ-carboxyhydrazide pyridinium ? Sur les chromatogrammes, il donne le spot de l'isoniazide, mais il diffère cependant par deux points des composés précédemment obtenus :

— Ce sel est fortement coloré en jaune, alors que les autres sels décrits ci-dessus sont tous blancs ;

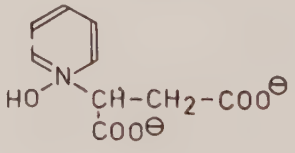
— D'autre part nous avons constaté que sa solution aqueuse, très légèrement colorée en jaune, voit sa

teinte s'exacerber d'une manière considérable lorsque l'on amène le milieu à un *p*H alcalin. Le changement de coloration est réversible : en milieu acide, la solution se montre complètement incolore ; on peut obtenir indéfiniment le changement de coloration par variation du *p*H ; aucun des autres sels d'INH décrits dans les lignes ci-dessus ne présente un phénomène analogue.

Il nous semble que le comportement spécial de l'acide maléique peut s'expliquer à la lumière des travaux de Lutz sur l'action de cet acide éthénique sur la pyridine. Lutz a montré en effet [236] que le produit obtenu par action de l'acide maléique sur la pyridine était identique à la fois au « fumarate acide de pyridinium » de Dubreuil [112] et au produit isolé en faisant réagir sur la pyridine divers acides succiniques halogénés. Lutz a attribué à ces composés la structure d'une bétaïne d'un acide pyridiniumsuccinique, auquel il assigne l'une des deux structures suivantes :



Le changement de coloration en milieu alcalin proviendrait alors de l'ouverture du cycle de la bétaïne et de la formation d'un nouvel anion :



Il est intéressant de noter la différence de comportement observée ici entre les deux acides stéréoisomères que constituent les acides fumarique et maléique. Avec la pyridine, Lutz et coll. [237] ont réussi à obtenir un composé de structure bétaïnique en partant de l'acide fumarique.

Les eaux-mères de la préparation précédente, gardées à la température du laboratoire, laissent déposer bientôt un précipité jaune pâle, très adhérent aux parois du récipient dans

lequel il prend naissance. L'analyse acidimétrique indique une composition voisine de celle du maléate neutre d'isoniazide, mais la chromatographie le résout en deux composés, l'un de fluorescence bleue (après révélation avec $BrCN+NH_3$) et de $Rf = 0,78$ (phase solvante NH_4Cl, 0,5 N) ou de $Rf = 0,75$ (phase solvante, NaCl 30 g p. 1000), l'autre de fluorescence jaune et de Rf plus élevé (phase solvante NH_4Cl, $Rf = 0,87$; phase solvante NaCl, $Rf = 0,84$).

Analyse :

$2C_6H_7ON_3$, $C_4H_4O_4$ (PM = 390,33).

Prise d'essai : 205,58 mg, soit 0,5267 mM

NaOH 0,4 N ..... { Calculé : 2,63 cm³. Trouvé : 2,68 cm³.

11° Résultats infructueux.

L'isoniazide réagit avec l'acide formique : le premier terme de la série des acides aliphatiques, dont les particularités réactionnelles sont bien connues, se comporte aussi d'une manière spéciale avec l'INH ; il fournit la N_1-*iso*nicotinoyl-N_2-formylhydrazine, comme l'a bien montré Yale [380]. Nous avons préparé ce composé selon les directives de cet auteur pour étudier certaines de ces propriétés (voir plus loin, p. 125).

Nous n'avons pas réussi à obtenir les acétate, propionate et glycolate d'isoniazide par action directe des acides correspondants. Les trois préparations ont fourni des mélanges que nous avons chromatographiés : on y trouve le spot du bis-*iso*nicotinoylhydrazide et celui de l'acide *iso*nicotinique (avec $BrCN+NH_3$, fluorescence jaune-vert ; phase solvante NH_4Cl, $Rf = 0,84 \pm 0,01$; phase solvante NaCl, $Rf = 0,82$).

Un essai de préparation du lactate d'INH en phase aqueuse nous a conduite au *bis*-INH ; une préparation analogue en milieu alcoolique laisse reprécipiter de l'INH pur.

L'obtention d'un adipate d'isoniazide nous a poussée à étudier l'action sur le tuberculostatique d'un homologue supérieur, l'acide sébacique ; en solution alcoolique, on n'observe qu'une teinte jaune très pâle, suivie de la précipitation d'INH.

B. — Sels d'acides aromatiques.

1° *o*-Toluène sulfonate de γ-carboxyhydrazide pyridinium (*o*-toluène sulfonate d'isoniazide)

Plusieurs toluène sulfonates d'*iso*nicotinylhydrazidones ont été décrits par Neuzil et Segonne [336, 281], mais le simple sel d'INH ne semble pas avoir été signalé ; Segonne [336] déclare n'avoir pu l'obtenir.

Nous avons repris ces essais en milieu alcoolique et nous avons préparé sans difficulté le sel désiré, qui cristallise en bâtonnets blancs sans entraîner de molécules de solvant.

Analyse :

$C_6H_7ON_3$, $C_7H_8O_3S$ (PM = 309,32).

Prise d'essai : 226,61 mg, soit 0,7326 mM

NaOH 0,4 N ..... { Calculé : 1,83 cm³. Trouvé : 1,82 cm³.

2° Nitro-3-phtalate de γ-carboxyhydrazide pyridinium (nitro-3-phtalate d'isoniazide)

Ce sel a été signalé par Segonne [336], mais cet auteur n'en fournit pas l'analyse.

L'acide nitro-3-phtalique a été obtenu par chauffage de l'anhydride nitro-3-phtalique avec la quantité théorique de soude; l'acide est ensuite précipité par HCl.

La préparation du sel d'isoniazide est réalisée au sein de l'alcool ; le produit recherché se présente sous la forme d'un précipité blanc floconneux.

Analyse :

$C_6H_7ON_3$, $C_8H_5O_6N_2$ (PM = 348,26 ; F = 189° C).

Prise d'essai : 203,45 mg, soit 0,5842 mM

NaOH 0,4 N ..... { Calculé : 2,92 cm³. Trouvé : 2,90 cm³.

3° Phénylarsinate de γ-carboxyhydrazide pyridinium (phénylarsinate d'isoniazide)

Préparé par mélange de solutions aqueuses bouillantes d'isoniazide et d'acide phénylarsinique, puis recristallisation dans l'eau ; la titration en présence de phénolphtaléine étant

impossible à réaliser, l'analyse est effectuée par électrotitration.

Analyse :

$C_6H_7ON_3$, $C_6H_7O_3As$ (PM = 339,17).

Prise d'essai : 210,31 mg, soit 0,620 mM

NaOH 0,3992 N ... { Calculé : 1,553 ; 3,106 cm³. Trouvé : 1,55 ; 3,09 cm³.

4° *p*-Hydroxyphénylarsinate de γ-carboxyhydrazide pyridinium

(*p*-hydroxyphénylarsinate d'isoniazide)

Ce sel arsenical se prépare aussi bien en milieu aqueux qu'en milieu alcoolique. Il cristallise sous forme de belles aiguilles blanches ; les cristaux présentent en lumière ultraviolette une faible fluorescence.

Comme pour le phénylarsinate, l'analyse acidimétrique ne peut être réalisée qu'en effectuant une électrotitration, car la neutralisation de la première fonction acide s'effectue à un *p*H légèrement supérieur à 6.

Analyses :

$C_6H_7ON_3$, $C_6H_7O_4As$ (PM = 355,16 ; F = 170-175° C, déc.).

a) Produit préparé dans l'alcool :

Prise d'essai : 184,15 mg, soit 0,51849 mM

NaOH 0,4 N ..... { Calculé : 1,296 cm³. Trouvé : 1,27 cm³.

b) Produit préparé dans l'eau :

Prise d'essai : 171,87 mg, soit 0,48392 mM

NaOH 0,4 N ..... { Calculé : 1,209 cm³. Trouvé : 1,20 cm³.

Nous n'avons pas pu observer sur les courbes d'électrotitration l'inflexion correspondant à la neutralisation de la deuxième fonction acide, ni celle relative à la fonction phénol.

5° Hydroxy-4-nitro-3-phénylarsinate de γ-carboxyhydrazide pyridinium

(hydroxy-4-nitro-3-phénylarsinate d'isoniazide)

La préparation du sel s'effectue en milieu alcoolique ; on obtient des cristaux jaunes, peu solubles dans l'eau à froid,

plus solubles à chaud. Ici encore, l'analyse acidimétrique est réalisée par électrotitration.

Analyse :

$C_6H_7ON_3$, $C_6H_6O_6NAs$ (PM = 400,16)

Prise d'essai : 220,46 mg, soit 0,55092 mM

NaOH 0,4 N ..... { Calculé : 1,377 ; 2,75 cm³.
Trouvé : 1,37 ; 2,73 cm³.

On note avec grande facilité sur la courbe la valeur de deux pK_a :

$$pK_{a^1} = 8,90$$
$$pK_{a^2} = 5,64$$

6° Essais infructueux

Le nombre important de sels d'isoniazide que nous connaissons maintenant ne doit pas nous faire oublier que l'obtention d'un sel sous forme cristalline implique des correspondances dimensionnelles entre les molécules en présence, afin qu'elles puissent former un réseau cristallin bien défini. Lorsque ces conditions ne sont pas réalisées, la cristallisation du sel ne peut être obtenue.

C'est ce que nous avons observé avec bon nombre d'acides de la série aromatique : benzoïque, *o*-nitrobenzoïque, *p*-aminobenzoïque (*), gallique, phénylacétique, mandélique, camphorique, anilarsinique, nicotinique, confirmant, pour certains d'entre eux, les échecs antérieurs de Segonne [336].

C. — Réactions de l'isoniazide avec quelques acides halogénés.

1° Action de l'acide monobromacétique sur l'isoniazide.

Lorsqu'on ajoute une quantité stoechiométrique d'acide monobromacétique à de l'isoniazide en solution dans l'alcool bouillant, on constate l'apparition immédiate d'une coloration jaune ; si l'on maintient le mélange au bain-marie, dans un ballon muni d'un réfrigérant à reflux, on note, après cinq minutes environ, l'insolubilisation d'un précipité jaune cristallin, que l'on recueille et que l'on lave à l'alcool froid.

(*) Contrairement au résultat de Charonnat et Boime [73].

Comme dans nos essais précédents, nous avons soumis ce produit à l'analyse acidimétrique, la titration s'effectuant en présence de phénolphtaléine ; nous avons alors remarqué que le virage de l'indicateur coloré était masqué par la superposition d'une coloration jaune : les solutions aqueuses du précipité prennent, en effet, une intense teinte jaune orangé en milieu alcalin. L'électrotitration nous a permis de constater que le produit correspondait à la formule d'un composé d'addition INH-acide monobromacétique.

Analyse :

$C_6H_7ON_3$, $C_2H_3BrO_2$ (PM = 276,09).

Prise d'essai : 202,82 mg, soit 0,73461 mM

NaOH 0,4 N ..... { Calculé : 1,836 cm³. Trouvé : 1,84 cm³.

Comme précédemment pour le produit d'addition acide maléique-INH, la couleur du composé obtenu et son comportement particulier en milieu alcalin posent des problèmes de structure et nous ont fait douter de l'existence du monobromacétate de γ-carboxyhydrazide pyridinium, d'autant plus que le comportement chromatographique de notre composé diffère nettement de celui des autres sels d'isoniazide ; en effet, au lieu d'observer une dissociation du sel et un spot d'INH, on remarque au contraire que le produit jaune possède un R*f* élevé (NH_4Cl 0,5 N, R*f* = 0,89 ; NaCl 30 g p. 1000, R*f* = 0,88) ; dans les deux systèmes de phases solvantes employés, le spot est suivi d'une très longue traînée.

Pour essayer d'élucider la structure du composé obtenu, nous avons réalisé de nombreux essais complémentaires.

a) *Réaction colorée de l'isoniazide et de l'acide monobromacétique en solution aqueuse.*

On dépose dans sept tubes à essais, munis d'une fermeture à rodage, 10 cm³ d'une solution renfermant :

— 0,8 mM d'acide monobromacétique,
— 0,8 mM d'INH,
— Une quantité de soude variable selon le tube, allant de 0 à 2,4 mM.

On note la couleur des mélanges dès leur réalisation tandis qu'on mesure leur *p*H à l'électrode de verre ; les tubes sont plongés trente minutes dans un bain-marie bouillant ; au sortir du bain, on note l'aspect du contenu dont on mesure à nouveau le *p*H, après refroidissement.

Voici les résultats d'une expérience :

Tubes n°		1	2	3	4	5	6	7
NaOH, mM		0,0	0,4	0,8	1,2	1,6	2,0	2,4
Dès la réalisation du mélange.	Aspect	jaune pâle	jaune pâle	incolore, devenant rapidement jaune				
	*p*H	3,26	3,81	8,62	10,94	11,81	12	12
Après 30' de bain-marie.	Aspect	jaune				orangé		
	*p*H	2,22	2,85	3,79	5,16	8,94	10,84	12

Nous constatons que le chauffage au bain-marie a entraîné :
— Une baisse de *p*H ;
— Une modification de coloration, surtout accusée en milieu alcalin.

L'alcalinisation ultérieure des quatre premiers tubes entraîne l'apparition de la coloration rouge-orangée ; au contraire, l'acidification des tubes 5, 6 et 7 fait virer au jaune leur coloration initiale ; le passage du jaune à l'orangé s'avère indéfiniment réversible par simple variation du *p*H du milieu.

Nous avons réalisé l'électrotitration des mélanges renfermés dans les quatre premiers tubes (fig. 2). Nous avons noté que le changement de coloration jaune $\rightleftarrows$ orangé s'effectuait à un *p*H voisin de 6,5 ; de plus, les quantités de soude nécessaires pour neutraliser le milieu sont toujours supérieures à celles correspondant à la neutralisation du seul groupement carboxylique de l'acide bromacétique ; il y a donc eu vraisemblablement déshalogénation de l'acide monobromacétique.

La même réaction colorée est susceptible d'être réalisée à la température du laboratoire, mais le contact entre l'INH et l'acide halogéné doit être alors maintenu pendant vingt-quatre heures.

La réaction colorée INH-acide monobromacétique en milieu alcalin s'avère assez sensible ; la teinte orangée est encore nettement visible lorsque la concentration finale en isoniazide du mélange réactionnel est de 0,00126 mM/cm^3 (tube 7 de l'expérience précédente) ; pour une concentration de 0,000625 mM/cm^3, soit de 85 mg/l, on note encore une teinte jaune très vive.

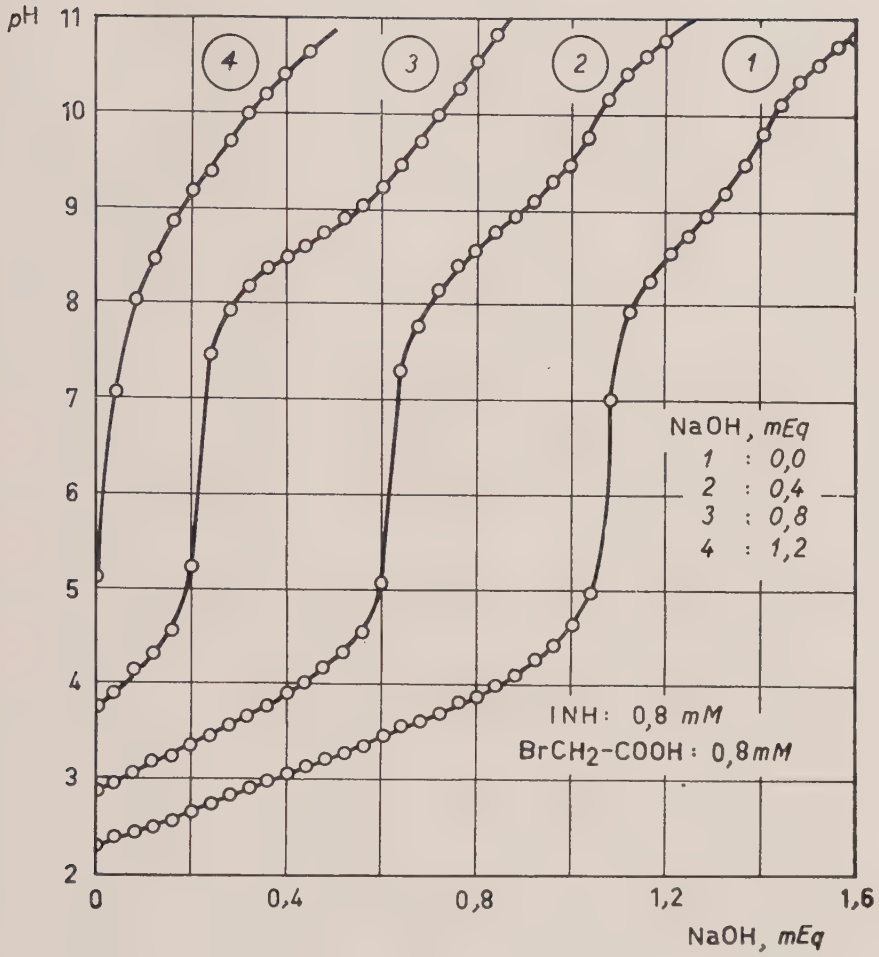


FIG. 2.

Courbes d'électrotitration des mélanges INH-acide monobromacétique (voir texte).

b) *Action de l'acide monobromacétique sur diverses substances apparentées à l'isoniazide.*

La fixation de l'acide monobromacétique, comme celle de tout composé possédant un halogène mobile, peut, d'une manière théorique, s'effectuer sur différents atomes de la molécule d'INH.

— Au niveau de l'atome d'azote hétérocyclique, deux modalités sont possibles :

α) La formation d'un véritable sel, comme dans la majorité des composés décrits ci-dessus ;

β) La formation d'une bétaïne. Nous devons à KIRPAL [206] la description de la bétaïne de l'acide *iso*nicotinique, préparée par chauffage, dans de la soude diluée, du composé pyridinique et d'acide monochloracétique ; avant lui, VON GERICHTEN avait préparé d'autres bétaïnes dans la série de la pyridine [148].

— Au niveau de l'atome N_2 de la chaîne hydrazidique, c'est-à-dire sur la fonction $-NH_2$ terminale ; FOX, GIBAS et MOTCHANE [135] ont montré récemment que la N_1-*iso*nicotinoylméthylhydrazine, traitée par l'iodure de méthyle au sein de l'éthylate de sodium, fournit le dérivé N_2,N_2-diméthylé. C'est également le groupement $-NH_2$ qui est invoqué par MATTU et PIRISI [248] pour expliquer la fixation de différents composés halogénés.

— Les chimistes américains ont éliminé la possibilité de fixation d'un dérivé halogéné en position N_1 ; les dérivés N_1 substitués de l'INH sont préparés par une voie détournée [134].

— La fixation sur l'atome d'oxygène de la chaîne hydrazidique, à la faveur de l'équilibre :

$$\text{Py—CO—NH—NH}_2 \rightleftarrows \text{Py—C(OH)=N—NH}_2$$

a été soutenue par LIBERMANN et coll. [227, 226] mais vivement critiquée par les organiciens de HOFFMANN - LA ROCHE Inc. [135].

Afin d'étudier comparativement l'action de l'acide monobromacétique sur des composés dérivés de l'isoniazide ou présentant une analogie fonctionnelle avec le tuberculostatique, nous avons adopté le protocole ci-dessous.

Comme on le voit, l'acide bromacétique se trouve dans tous les tubes en net excès par rapport à la substance examinée ; la quantité de soude exactement nécessaire à la neutralisation du groupement carboxylique de l'acide monobromacétique est déposée dans le tube n° 3 ; dans les tubes 1 et 2, la réaction s'effectue en milieu acide, dans les tubes 4 et 5 en milieu alcalin. Nous avons noté l'aspect des mélanges dès leur réalisation (I), après trente minutes de bain-marie bouillant (II),

Tubes n°	1	2	3	4	5
Substance à essayer, mM (en solution dans 1 cm³).	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Acide monobromacétique, mM (en solution dans 1 cm³)	0,4	0 4	0,4	0,4	0,4
NaOH 0,4 N (en cm³)	0	0,5	1	2	3
Eau (en cm³)	3	2,5	2	1	0

le lendemain, sans modification (III) ou après addition d'1 cm³ de lessive de potasse (IV).

L'isoniazide nous a donné les résultats suivants :

Tubes n°	1	2	3	4	5
I	0	0	0	jaune clair	jaune clair
II	jaune clair	jaune	jaune	orangé rouge	orangé rouge
III	les teintes ont pâli dans tous les tubes				
IV	jaune orangé	jaune orangé	jaune orangé	jaune orangé	jaune orangé

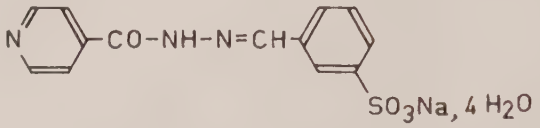
0 = pas de coloration.

Nous nous sommes ensuite attachée à l'étude de substances dérivant directement de l'INH. Les *iso*nicotinylhydrazidones, produit de condensation de l'isoniazide avec les composés carbonylés, présentent vis-à-vis de l'acide monobromacétique un comportement très voisin de celui de l'hydrazide qui leur a donné naissance. L'*iso*nicotinylhydrazidone de l'acide *m*-formylbenzènesulfonique (*) [61, 113, 125, 239, 240,

(*) Ce produit, encore appelé G 605 ou sulfoniazide, est spécialisé en France sous le nom d' « Isorilone ». Nous remercions les Laboratoires Roussel, 89, rue du Cherche-Midi, Paris (VI^e^), de nous avoir aimablement fourni ce tuberculostatique. Le sulfoniazide se montre homogène à l'examen chromatographique ; le spot présente une fluorescence blanche assez vive, et se caractérise par les R*f* suivants :

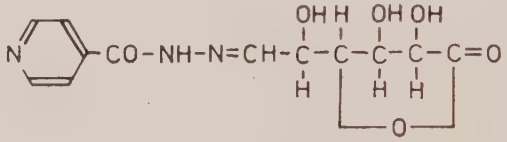
— NH_4Cl 0,5 N, R*f* = 0.54,
— NaCl 30 g p. 1.000, R*f* = 0.55,

238] précipite à froid dans le tube n° 1, en raison de l'acidité du milieu, et se redissout ensuite au bain-marie, pour donner, en définitive, dans tous les tubes, des colorations très superposables à celles de l'INH.



Sel de sodium
de l'*iso*nicotinylhydrazidone de l'acide *m*-formylbenzènesulfonique.

L'*iso*nicotinylhydrazidone de la glycuronolactone (*) [50, 51, 57, 172, 296, 321, 103, 159, 197, 14, 364] fournit également les mêmes colorations que l'isoniazide ; on observe simplement, dès la réalisation des mélanges, une teinte jaune beaucoup plus vive dans les tubes 4 et 5.



*iso*Nicotinylhydrazidone de la glycuronolactone (glyconiazide).

L'*iso*nicotinylhydrazidone de l'aldéhyde hydroxy-3-diméthyl-2,2-propionique ou aldéhyde hydroxypivalique (**) [176], réagit moins bien avec l'acide bromacétique que les trois dérivés ci-dessus : on n'observe aucune coloration immédiate

---

(*) Cette hydrazidone (INHGL) est utilisée en thérapeutique humaine : elle est spécialisée en France sous le nom de « Mycobactyl » par les Laboratoires Grimault, S. A R. L., 81, rue François-Ier, Paris (VIIIe), qui nous ont aimablement fourni un échantillon de ce produit. L'INHGL révèle à la chromatographie un spot principal :

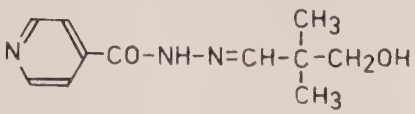
— Fluorescence bleu clair,
— $Rf = 0{,}79$ avec NH_4Cl 0,5 N,
— $Rf = 0{,}82$ avec NaCl 30 g p. 1.000,

et un spot beaucoup plus faible qui s'identifie avec l'INH.

(**) Des essais thérapeutiques ont été effectués aux Etats-Unis avec cette substance, sous le nom de « Pivalizid ». Nous remercions la firme Nepera Chemical Co., Inc., Nepera Park, Yonkers 2, N.Y., qui nous a fait parvenir un échantillon de cette hydrazidone. L'étude chromatographique du produit commercial montre, à côté d'une faible quantité d'INH, un spot principal :

— Fluorescence bleue,
— $Rf = 0{,}86$ avec NH_4Cl 0,5N,
— $Rf = 0{,}82$ avec NaCl 30 g p. 1.000.

à froid et les teintes obtenues après chauffage sont jaune orangé nettement moins rouge que celles fournies par l'INH.



*iso*Nicotinylhydrazidone de l'aldéhyde hydroxypivalique.

L'*iso*nicotinylhydrazidone de la vanilline, que nous avons préparée sans difficulté [260, 247, 249, 340, 119, 130, 230, 327], est peu soluble dans l'eau et nous avons été obligée de la dissoudre en milieu chlorhydrique pour réaliser une expérience fondée sur le même protocole. Les colorations notées sont dues, en partie, à la teinte jaune intense de la solution chlorhydrique de l'*iso*nicotinylhydrazidone de la vanilline. Il faut remarquer néanmoins que la coloration rouge obtenue finalement par addition de potasse est beaucoup plus importante que celle donnée dans les mêmes conditions par l'INH.

Tubes n°	1	2	3	4	5
I	jaune très vif				
II	jaune très vif			orangé	orangé-rouge
III	jaune très vif				orangé
IV	orangé-rouge	rouge	rouge	orangé	orangé

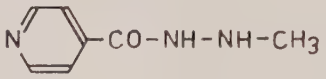
L'acide chlorhydrique employé pour dissoudre le composé précédent n'est pas responsable de la coloration rouge obtenue, car l'*iso*nicotinylhydrazidone du méthanal [234], que nous avons solubilisée dans les mêmes conditions, donne les mêmes teintes que l'isoniazide (*).

Les *iso*nicotinylhydrazidones, comme toutes les hydrazones, sont des substances susceptibles de s'hydrolyser et l'on pourrait penser que les colorations notées sont données par l'hydrazide libéré ; aussi avons-nous voulu examiner le compor-

(*) L'*iso*nicotinylhydrazidone du méthanal est homogène à la chromatographie; son spot, de fluorescence bleue après BrCN + NH possède un Rf = 0,79 dans les deux systèmes utilisés.

tement vis-à-vis de l'acide bromacétique de dérivés plus stables ; nos premiers essais ont été réalisés avec des N_1-*iso*-nicotinoylhydrazines monosubstitués en N_2.

La N_1-*iso*nicotinoyl-N_2-méthylhydrazine [63, 131] (*) donne



N_1-*iso*nicotinoyl-N_2-méthylhydrazine.

à froid avec l'acide halogéné en milieu alcalin (tubes 4 et 5) une coloration jaune très vive ; la réaction colorée obtenue à chaud est voisine de celle de l'INH, mais moins intense.

La N_1-*iso*nicotinoyl-N_2-*iso*propylhydrazine (**) se comporte à froid comme le dérivé précédent, mais les colorations notées à la sortie du bain-marie présentent la même intensité que

---

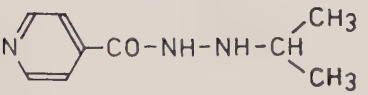
(*) M. H.-H. Fox, de la firme Hoffmann La Roche Inc., Nutley, N.J., a bien voulu nous faire parvenir, par l'intermédiaire de M. le Dr Neuzil, cinq *iso*nicotinoylhydrazines substituées par divers radicaux. Nous le prions de trouver ici nos plus vifs remerciements. Ces produits se sont montrés homogènes à la chromatographie et ont présenté dans nos systèmes habituels les *Rf* suivants :

N1-*iso*nicotinoylhydrazines, substituées en :		*Rf* NH4Cl 0,5 N	*Rf* NaCl 30 g p. 1.000	Aspect du spot vis.	Aspect du spot U. V.
		—	—	—	—
N2-méthyl, base	(Ro-2-4747/1)	0,85	0,81	j. pâle	bleu
N2, N2-diméthyl, 2 HCl	(Ro-2-4962/1)	0,92	0,86	j. pâle	bleu
N2-méthyl, oxalate	(Ro-5690/1)	0,88	0,85	j. pâle	vert
N1, N2-diméthyl, oxalate	(Ro-2-5622)	0,91	0,88	jaune	br. rouge
N1-allyl-N2, N2-diméthyl, base	(Ro-2-5215)	0,90	0,87	j. pâle	vert

Le produit Ro-5690/1 semble toutefois contenir des traces d'un composé de *Rf* supérieur.

(**) Ce dérivé de l'INH [244, 67, 131, 251, 380] a été employé en clinique humaine sous le nom de « Marsilid » [41, 315, 337]. Nous avons utilisé le monophosphate de ce dérivé, aimablement fourni par les Laboratoires Roche, 10, rue Crillon, Paris (IVe). Le dérivé *iso*propylé présente les caractéristiques chromatographiques suivantes :

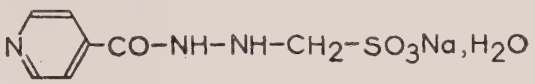
— Fluorescence vert-jaune en U.V. après $BrCN + NH_3$,
— *Rf* = 0,86 avec NH_4Cl 0,5N,
— *Rf* = 0,81 avec NaCl 30 g p. 1.000.



N_1-*iso*nicotinoyl- N_2-*iso*propylhydrazine.

celles fournies par l'isoniazide ; la lecture effectuée après vingt-quatre heures montre un net affaiblissement des teintes, mais l'addition de potasse amène dans les cinq tubes une coloration rouge-orangé intense.

Le méthane sulfonate sodique d'isoniazide (*) est un sel hydrosoluble (12 p. 100 à 20° C) qui cristallise avec une molécule d'eau [233, 234] et qui s'est avéré peu toxique et actif sur le BK [169, 316, 385, 69, 71, 72, 70]. Ce tuberculostatique ne donne, à froid, aucune réaction avec l'acide monobromacétique ; après séjour au bain-marie, la coloration



Méthane sulfonate sodique d'isoniazide.

des tubes 4 et 5 est moins prononcée que celle donnée par l'INH, mais la teinte est voisine.

Les trois composés ci-dessus entrent dans le groupe des N_1-*iso*nicotinoyl-N_2-alkylhydrazines. Nous avons également examiné les réactions colorées avec deux N_1-*iso*nicotinoyl-N_2-acylhydrazines dont nous avons effectué nous-même la synthèse.

La N_1-*iso*nicotinoyl-N_2-butyroylhydrazine [132] (**) donne

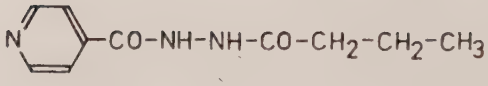
---

(*) Nous remercions les Laboratoires Carlo Erba, via Carlo Imbonati 24, Milan (Italie), qui nous ont gracieusement fourni le produit nécessaire à notre expérimentation. Le méthane sulfonate sodique de l'isoniazide est spécialisé en Italie sous le nom de « Néo-Tizide ». La préparation que nous avons utilisée datait de deux ans et, de ce fait, renfermait une faible proportion d'isoniazide, comme nous l'a montré la chromatographie ; le méthane sulfonate sodique de l'INH lui-même possède les caractères chromatographiques ci-dessous :

— Fluorescence verte,
— Rf =0,87 avec NH_4Cl 0,5N,
— Rf =0,86 avec NaCl 30 g p. 1.000.

(**) Ici encore, la pureté du produit a été contrôlée par l'analyse chromatographique :

— Spot à vive fluorescence jaune après $BrCN + NH_3$,
— Rf = 0,84 avec NH_4Cl 0,5N,
— Rf = 0,75 avec NaCl 30 g p. 1.000.



N_1-*iso*nicotinoyl-N_2-butyroylhydrazine.

des colorations assez nettement différentes de celles obtenues avec l'INH.

Tubes n°	1	2	3	4	5
I	0	0	0	jaune très pâle	jaune très pâle
II	0	0	jaune	jaune vif	jaune vif
III	0	0	0	jaune vif	jaune vif
IV	jaune vif				

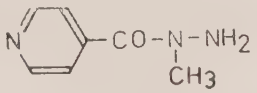
La N_1,N_2-bis-*iso*nicotinoylhydrazine, que l'on peut considérer comme un produit d'oxydation de l'isoniazide (voir p. 10 et plus loin p. 110) est très peu soluble dans l'eau et doit être dissoute en milieu légèrement chlorhydrique ; elle donne alors lieu aux réactions suivantes :

Tubes n°	1	2	3	4	5
I	jaune pâle	jaune	jaune	jaune	jaune
II	jaune	jaune	jaune vif	orangé rouge	orangé rouge
III	jaune pâle	jaune	jaune vif	orangé	orangé
IV	orangé rouge	rouge	rouge	rouge	orangé rouge

Comme le montre le tableau ci-dessus, les colorations obtenues après forte alcalinisation sont très intenses.

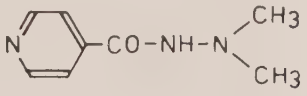
La N_1-*iso*nicotinoyl-N_1-méthylhydrazine [97, 134] réagit avec l'acide bromacétique en donnant les mêmes réactions

colorées que la N_1-*iso*nicotinoyl-N_2-butyroylhydrazine ; toutefois, aucune coloration ne se développe à froid.



N_1-*iso*nicotinoyl-N_1-méthylhydrazine.

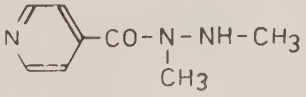
Le tableau suivant nous indique l'influence de la substitution complète du groupement -HN_2 terminal de l'INH sur la réaction chromatique avec l'acide monobromacétique ; la N_1-*iso*nicotinoyl-N_2,N_2-diméthylhydrazine [133, 135] ne donne aucune réaction colorée en milieu alcalin.



N_1-*iso*nicotinoyl-N_2,N_2-diméthylhydrazine.

Tubes n°.....	1	2	3	4	5
I.....	0	0	0	jaune pâle	jaune pâle
II.....	0	jaune pâle	jaune pâle	0	0
III.....	0	0	0	0	0
IV.....	jaune vif	jaune vif	jaune vif	0	0

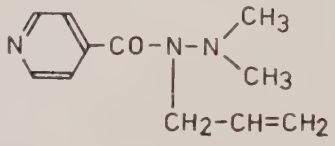
La réaction colorée obtenue avec la N_1-*iso*nicotinoyl-N_1, N_2-diméthylhydrazine [133, 135] est également peu marquée.



N_1-*iso*nicotinoyl-N_1,-N_2 diméthylhydrazine.

Tubes n°	1	2	3	4	5
I	0	0	0	0	0
II	0	0	0	jaune pâle	jaune pâle
III	0	0	0	jaune pâle	jaune pâle
IV	jaune pâle				

Le dernier dérivé de cette série que nous avons étudié est la N_1-*iso*nicotinoyl-N_1-allyl-N_2,N_2 diméthylhydrazine [135, 134].



N_1-*iso*nicotinoyl-N_1-allyl-N_2, N_2-diméthylhydrazine.

Nous n'avons noté qu'une faible coloration mauve très fugace au cours de la réalisation des mélanges des tubes 4 et 5 ; cette même coloration fugitive apparaît lorsqu'on ajoute le lendemain la lessive de potasse dans les tubes 1, 2, 3. Les résultats sont consignés dans le tableau ci-dessous :

Tubes n°	1	2	3	4	5
I	0	0	0	mauve fugitif	
II	0	0	0	jaune pâle	
III	0	0	0	0	jaune pâle
IV	mauve fugitif puis jaune pâle			jaune pâle	

L'acide *iso*nicotinique, que nous avons préparé en oxydant par l'eau de brome l'isoniazide [178], ne donne aucune coloration appréciable avec l'acide monobromacétique.

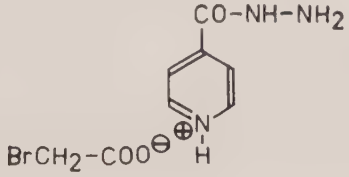
Afin de nous rendre compte de l'influence, sur le développement de la coloration, de la position spatiale de la chaîne

hydrazidique sur le noyau pyridinique, nous avons examiné le comportement de l'hydrazide nicotinique [260, 362, 147, 25, 29, 62, 67, 129, 244], que nous avons préparé par hydrazinolyse de l'amide nicotinique et recristallisation dans l'alcool. Cet hydrazide ne donne aucune coloration à froid ; les teintes observées en II, III et IV sont celles que nous avons signalées plus haut pour la N_1-*iso*nicotinoyl-N_2-butyroylhydrazine. Notons enfin que l'acide nicotinique ne fournit qu'une très faible coloration jaune pâle en milieu très fortement alcalin.

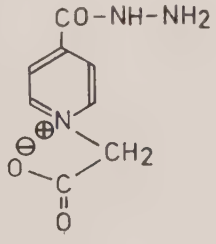
Le benzhydrazide ne diffère de l'isoniazide que par l'atome d'azote hétérocyclique : l'hydrazide de l'acide benzoïque ne donne que des solutions incolores en présence de soude et d'acide monobromacétique.

c) *Essai d'interprétation.*

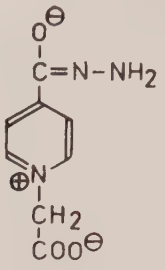
Cette dernière expérience nous conduit à penser que la réaction colorée de l'INH avec l'acide bromacétique provient de l'existence dans la molécule du tuberculostatique du noyau de la pyridine. On peut alors concevoir la succession des réactions suivantes : en faisant réagir l'acide monobromacétique sur l'INH dans l'alcool, on isole tout d'abord un simple sel de structure :



En milieux aqueux et acide, ce sel se transformerait en une bétaïne ; la réaction est plus rapide à chaud et s'accompagne de la libération d'ions hydrogène, provenant de la dissociation de l'acide bromhydrique formé ; la formation de



bétaïne est favorisée par l'adjonction d'une base capable de libérer le brome de sa liaison carbonée ; en milieu fortement alcalin enfin, la bétaïne est détruite et il se forme le sel :



Une telle réaction peut se produire avec tous les composés pyridiniques ; mais la couleur des produits obtenus est fonction de la position et de la nature des substituants nucléaires. L'intensité de coloration la plus grande est donnée par des dérivés pyridiniques γ-substitués, dont fait partie l'INH ; les *iso*nicotinylhydrazidones, et les *iso*nicotinoylhydrazines possédant un atome d'hydrogène libre sur l'azote N_1 du groupement hydrazidique donnent toutes, en milieu alcalin, une coloration orangée, plus ou moins rouge selon les cas ; tous ces dérivés peuvent s'ioniser et acquérir une charge négative au niveau du groupement — CO — de la chaîne hydrazidique.

Lorsque l'atome N_1 est disubstitué, une telle ionisation n'est plus possible : la coloration est alors jaune (N_1-*iso*nicotinoyl-N_1-méthylhydrazine), ou jaune pâle (N_1-*iso*nicotinoyl-N_1,N_2-diméthylhydrazine ; N_1-*iso*nicotinoyl-N_1-allyl-N_2,N_2-diméthylhydrazine).

L'absence complète de coloration observée en milieu alcalin avec la N_1-*iso*nicotinoyl-N_2,N_2-diméthylhydrazine, qui possède cependant un hydrogène mobile au niveau de l'azote N_1, peut être mise sur le compte de l'hydrolyse facile de ce composé en milieu alcalin.

2° Action de l'acide monochloracétique sur l'isoniazide.

Nous avons constaté que l'acide monochloracétique donnait avec les solutions aqueuses d'INH des réactions très voisines de celles fournies par l'acide monobromacétique :

— Coloration jaune en milieu acide, qui se développe rapidement au bain-marie bouillant ;

— Baisse du *p*H au cours de la réaction ;

— La coloration jaune vire à l'orangé en milieu alcalin : la réaction est réversible et ici encore le *p*H du virage est voisin de 6,5.

Voici les résultats d'une expérience, effectuée dans les mêmes conditions que celle décrite p. 65 à propos de l'homologue bromé :

Tubes n°.....		1	2	3	4	5	6	7
NaOH, mM.....		0,0	0,4	0,8	1,2	1,6	2,0	2,4
Dès la réalisation du mélange.	Aspect	jaune	jaune pâle	incolore	incolore, devenant jaune			
	*p*H	3,21	3,82	9,41	10,96	>12	>12	>12
Après 30' de bain-marie.	Aspect	jaune			orange			
	*p*H	2,97	3,39	4,52	8,20	9,86	10,91	>12

L'action des deux acides halogénés sur l'isoniazide n'est cependant pas identique : en cherchant à préparer le monochloracétate d'INH par action de l'acide sur le tuberculostatique en solution alcoolique, nous avons obtenu la précipitation à partir de la solution jaune de cristaux que l'analyse nous a permis d'identifier à l'INH.

3° Action de l'acide α-bromopropionique.

Le chauffage, en solution alcoolique, d'isoniazide avec l'acide α-bromopropionique s'accompagne de la formation d'une coloration jaune ; par refroidissement, on obtient un précipité jaune cristallin qui ne semble toutefois pas homogène. On le recueille néanmoins et, lorsqu'on le soumet à l'analyse acidimétrique, on constate le même phénomène que celui observé avec les acides monobromacétique et monochloracétique : l'obtention d'une coloration jaune en milieu alcalin, coloration qui vient interférer avec le virage de la phénolphtaléine.

L'électrotitration donne un chiffre de neutralisation nette-

ment supérieur à celui correspondant au simple α-bromopropionate d'INH.

Ces quelques résultats nous inclinent à penser que l'acide α-bromopropionique doit également réagir sur l'azote hétérocyclique du tuberculostatique pour donner une bétaïne ; il est évident que des recherches ultérieures seront nécessaires pour préciser ce point.

4° Trichloracétate de γ-carboxyhydrazide pyridinium (trichloracétate d'isoniazide)

Un certain nombre de trichloracétates d'*iso*nicotinylhydrazidones ont été décrits par Neuzil et Segonne [336, 281], mais le simple trichloracétate d'isoniazide ne semble pas avoir été préparé ; Segonne [336] n'a pu l'obtenir.

Nous avons constaté que ce sel précipite par refroidissement, en beaux cristaux jaunes, d'une solution alcoolique chaude concentrée d'INH et d'acide trichloracétique. Le précipité est lavé à l'alcool froid et soumis à l'analyse. Il est homogène à la chromatographie.

Analyse :

$C_6H_7ON_3$, $C_2HCl_3O_2$ (PM = 300,53 ; déc. vers 101-120° C).

Prise d'essai : 164,63 mg, soit 0,5477 mM

NaOH 0,4 N ..... { Calculé : 1,36 cm³. Trouvé : 1,37 cm³.

Remarquons que la titration en présence de phénolphtaléine s'est effectuée de façon tout à fait normale ; nous avons d'ailleurs vérifié que la solution aqueuse de trichloracétate d'isoniazide, fraîchement préparée, ne subit aucun changement de coloration lorsqu'on l'alcalinise.

V. — CONCLUSIONS DU PREMIER CHAPITRE

Dans les premières pages de ce chapitre, nous avons passé en revue les différentes réactions chimiques auxquelles est susceptible de participer l'atome d'azote hétérocyclique des dérivés de la pyridine : la formation de bases et de sels de pyridinium s'obtient par action de différents composés halogénés, mais aussi de simples acides. L'isoniazide, composé pyridinique, donne lieu à des réactions analogues. Nous nous sommes plus particulièrement intéressée à l'action des acides

sur le tuberculostatique et nous avons donné la liste des sels d'isoniazide connus jusqu'à présent.

Cette liste a été augmentée par notre contribution personnelle ; nous décrivons, en effet, cinq sels minéraux de l'INH : les bromhydrate, iodhydrate, sulfate, phosphate et arséniate. Nous avons consacré de nombreux essais à la synthèse de nouveaux sels organiques d'isoniazide ; les diacides nous ont conduite à la préparation de l'oxalate, du malonate, du succinate, du malate, du tartrate, du fumarate, de l'adipate et du citrate ; l'obtention de ces sels, neutres ou acides selon les cas, montre que leur cristallisation est plus en rapport avec des facteurs de dimensions moléculaires qu'avec la force des acides. L'action de l'acide maléique sur l'INH semble indiquer une fixation particulière du diacide éthénique, avec formation d'une bétaïne.

Nous rapportons également les sels obtenus en mettant en jeu les acides aromatiques suivants : *o*-toluène sulfonique, nitro-3-phtalique, phénylarsinique, *p*-hydroxyphénylarsinique et hydroxy-4-nitro-3-phénylarsinique.

Nous terminons enfin ce chapitre par une étude de la réaction entre certains acides halogénés et l'isoniazide. L'acide monobromacétique donne, en plus d'un sel, une réaction colorée dont nous avons étudié les modalités et la sensibilité ; l'examen systématique de l'action de l'acide monobromacétique sur différents dérivés de l'isoniazide et sur des substances plus ou moins apparentées au tuberculostatique nous a permis de proposer une hypothèse sur le mécanisme d'action de l'acide halogéné : le sel initial se transformerait en bétaïne, dont l'ouverture en milieu alcalin serait responsable des colorations observées ; l'acide monochloracétique et l'acide α-bromopropionique se comportent d'une manière très voisine de celle de l'acide bromacétique. L'acide trichloracétique, au contraire, réagit comme les acides habituels pour donner le trichloracétate correspondant.

CHAPITRE II

RÉACTIONS DE L'ISONIAZIDE AVEC LES COMPOSÉS CARBONYLÉS

Tous les composés possédant dans leur molécule le groupement :

$$—NH—NH_2$$

réagissent avec les dérivés carbonylés. Les hydrazines donnent des hydrazones aussi bien avec les aldéhydes qu'avec les cétones :

$$R—NH—NH_2 + OHC—R' \rightarrow R—NH—N = CH—R' + H_2O,$$

$$R—NH—NH_2 + O=C(R')(R'') \rightarrow R—NH—N=C(R')(R'') + H_2O.$$

Ces réactions sont connues depuis longtemps, car elles sont faciles à réaliser et, de plus, les hydrazones obtenues cristallisent souvent sous une forme caractéristique tout en présentant un point de fusion net. On sait tout l'intérêt de l'obtention des hydrazones en chimie analytique.

Les hydrazides ont un comportement tout à fait similaire :

$$R—CO—NH—NH_2 + OHC—R' \rightarrow R—CO—NH—N = CH—R'$$

$$R—CO—NH—NH_2 + O=C(R')(R'') \rightarrow R—CO—NH—N=C(R')(R'') + H_2O$$

et forment des hydrazidones. Pendant de nombreuses années, ces hydrazidones n'ont guère été utilisées que pour des buts

analytiques [92, 93, 324, 325, 147, 297]. Elles ont pris récemment une importance plus considérable depuis que nous savons que les hormones stéroliques peuvent être extraites des milieux biologiques sous forme d'hydrazidones hydrosolubles, grâce aux réactifs de Girard et Sandulesco [154] et surtout depuis la mise en évidence des propriétés tuberculostatiques de l'hydrazide de l'acide *iso*nicotinique.

On s'est aperçu, en effet, que les *iso*nicotinylhydrazidones conservaient le plus souvent les propriétés tuberculostatiques de la substance qui leur a donné naissance, tout en étant souvent de toxicité moindre. Il semble que les propriétés toxiques, assez faibles d'ailleurs, de l'INH puissent être mises sur le compte d'un choc « carbonyloprive » [75], provenant du blocage, sous la forme des hydrazidones correspondantes, de substances carbonylées jouant un rôle de premier plan dans le métabolisme intermédiaire, comme l'acide pyruvique, l'acide oxalacétique et l'acide α-cétoglutarique. Remarquons d'ailleurs que chez le rat, l'INH s'élimine en partie après s'être « conjugué » avec l'acide pyruvique et l'acide α-cétoglutarique [381].

Nous avons déjà, dans un précédent chapitre, cité quelques *iso*nicotinylhydrazidones employées pour le traitement de la tuberculose humaine : sulfoniazide et glyconiazide. L'*iso*nicotinylhydrazidone de l'aldéhyde salicylique [25, 66, 67, 244, 247, 249, 285, 340, 248, 56, 117, 175, 230, 327] est utilisée aux U. S. A. (*). Signalons encore l'*iso*nicotinylhydrazidone de l'aldéhyde vératrique (diméthoxy-3,4-benzaldéhyde), dont Cymerman-Craig et Rubbo [96] ont signalé les particularités d'action : ce composé se montre, en effet, actif sur la tuberculose expérimentale du cobaye même s'il est administré à doses intermittentes, avec des intervalles de sept, quatorze ou même vingt-huit jours.

L'intérêt de la réaction entre l'isoniazide et les composés carbonylés est encore renforcé par la démonstration de l'inhibition par l'acétone [330], l'acide pyruvique [330] ou l'acide α-cétoglutarique [302, 330], du pouvoir tuberculostatique de l'INH *in vitro*.

Le nombre des *iso*nicotinylhydrazidones décrites est très élevé à l'heure actuelle. Dans notre laboratoire, un certain nombre d'entre elles ont déjà été appliquées à l'identification microcristalline du tuberculostatique [277, 280, 336], tandis

(*) Spécialisée sous le nom de « Salizid » par Nepera Chemical Co., Inc.

qu'était décrite la réaction de l'INH avec certains colorants azoïques à fonction aldéhydique libre [279, 336]. Dans ce chapitre, nous étudierons successivement :

— La réaction de l'isoniazide avec deux aldéhydes aromatiques apparentés à la vanilline ;

— La réaction de l'INH avec l'acide camphosulfonique ; nous verrons que, selon les conditions expérimentales, ce composé terpénique réagit comme un composé carbonylé ou comme un acide.

— Nous examinerons ensuite l'interaction de l'INH avec deux méthylpentoses, le rhamnose et le fucose.

— Nous rapporterons les résultats de nos expériences relatives à la réaction « INH-composés dicarbonylés ».

— Nous terminerons enfin en donnant les résultats préliminaires que nous avons obtenus en ce qui concerne la réaction « INH-quinones ».

I. — NOUVELLES *ISO*NICOTINYLHYDRAZIDONES APPARENTÉES A LA VANILLINE

Nous avons déjà signalé plus haut (voir p. 67) l'obtention de l'*iso*nicotinylhydrazidone de l'hydroxy-4-méthoxy-3-benzaldéhyde, ou vanilline (F = 218° C [260], F = 219-220° C [340], F = 232-233° C [327], F = 229,5-230,5° C [130], F = 218-219° C [247] ; —,$1H_2O$: 225° C [230] ; —,N-oxyde : F = 284° C, déc. [83]).

L'éthylvanilline, souvent employée comme succédané de la vanilline, est l'homologue supérieur du produit naturel ; l'hydroxy-4-éthoxy-3-benzaldéhyde donne également un produit de combinaison avec l'isoniazide (F = 258-259° C [327]).

Nous avons préparé deux nouvelles hydrazidones appartenant à cette série.

1° *Iso*NICOTINYLHYDRAZIDONE DE L'*iso*ÉTHYLVANILLINE.

Ce produit a été préparé en portant au bain-marie un mélange de 7,5 mM d'INH (dissous dans 15 cm³ d'eau) et de 9 mM d'hydroxy-3-éthoxy-4-benzaldéhyde ou *iso*éthylvanilline (*) (en solution dans 20 cm³ d'alcool). On opère donc en présence d'un léger excès du composé carbonylé.

(*) Nous tenons à remercier M. le Professeur CAUJOLLE qui, par l'intermédiaire de M. le Dr NEUZIL, nous a donné un échantillon de ce produit ; nous lui devons également l'*ortho*éthylvanilline, le dialdéhyde vanillique et le dialdéhyde éthylvanillique dont nous nous sommes servie dans ce travail (voir pages 94 et 95). CAUJOLLE [65], a réalisé une très intéressante étude pharmacodynamique de ces produits.

Par refroidissement, on obtient des cristaux jaunes qui sont recristallisés, avec assez de difficultés, dans l'alcool à 90° ; les cristaux obtenus après recristallisation sont beaucoup plus pâles que ceux du premier jet. Nous les avons séchés, puis soumis à l'analyse élémentaire ; ils ne présentent aucune fluorescence.

Analyse :

$C_{15}H_{15}O_3N_3$ (PM = 285,28 ; F = 227° C).

	% C	% H	% O	% N
Calculé	63,14	5,29	16,82	14,73
Trouvé	63,12	5,29	17,01	14,95

2° *Iso*NICOTINYLHYDRAZIDONE DE L'*ortho*ÉTHYLVANILLINE.

L'*ortho*éthylvanilline, ou hydroxy-2-éthoxy-3-benzaldéhyde, peut être considérée comme un dérivé de l'aldéhyde salicylique, l'éthoxy-3-salicylaldéhyde. Le produit de condensation avec l'INH de son homologue inférieur, le méthoxy-3-salicylaldéhyde, est connu (F = 234° C [56] ; F = 236-237° C [327]). Aucune recherche ne semble avoir été réalisée avec l'*ortho*éthylvanilline.

On chauffe au bain-marie 5,5 mM d'INH (dans 15 cm³ d'eau) avec 6 mM d'*ortho*éthylvanilline (dans 20 cm³ d'alcool) ; la solution, colorée en jaune, laisse déposer par refroidissement un précipité jaune clair qu'on recristallise très facilement dans l'alcool à 90°.

On recueille de belles aiguilles blanches, qui présentent une belle fluorescence jaune orangé en lumière ultraviolette. La fluorescence du composé montre bien son affiliation au salicylaldéhyde. L'aldéhyde salicylique fournit, en effet, avec l'hydrazine des aldazines fortement fluorescentes [121] ; son *iso*nicotinylhydrazidone présente également une fluorescence en milieu neutre, qui disparaît en milieu acide [120].

Analyse :

$C_{15}H_{15}O_3N_3$ (PM = 285,28 ; F = 188° C).

	% C	% H	% N
Calculé	63,14	5,29	14,73
Trouvé	63,95	5,96	14,79
	62,81	5,53	

II. — ACTION DE L'ACIDE CAMPHOSULFONIQUE SUR L'ISONIAZIDE

CAMPHOSULFONATES D'*ISO*NICOTINYLHYDRAZIDONES

A la fin du siècle dernier, Reychler [313] montrait qu'en traitant à froid le camphre naturel (1 mol.) par un mélange d'anhydride acétique (2 mol.) et d'acide sulfurique (1 mol.), on obtenait un produit de sulfonation. L'acide D-camphosulfonique-10 obtenu présente, sur un noyau terpénique saturé, deux groupements possédant chacun une grande réactivité chimique : la fonction cétonique, initialement présente dans la molécule de camphre, et une fonction acide sulfonique.

Un tel composé peut donc *a priori* réagir de deux façons différentes sur l'isoniazide ; l'union par le groupement carbonylé conduit à une *iso*nicotinylhydrazidone, tandis que la fonction acide peut donner un sel d'INH. On a décrit, en effet, aussi bien des dérivés de la fonction cétonique de l'acide camphosulfonique, oxime [313, 341], phénylhydrazone [313, 334], dinitrophénylhydrazone [122], que des sels organiques, sels d'amines [371, 231, 333, 334, 352], d'anesthésine [220], d'hexaméthylènetétramine [28], de pipéridine [11, 163], de strychnine, de brucine [54] ou d'autres alcaloïdes [313, 303, 255, 155, 139, 283, 256, 48]. Quelques *iso*nicotinylhydrazidones de cétones terpéniques ont été décrites ; on connaît celles du camphre [63, 230], de la menthone [327], de l'isophorone [327], de l'α-ionone [327], de la β-ionone [327, 134] et de la pseudo-ionone [134].

A. — *iso*Nicotinylhydrazidone de l'acide-D-camphosulfonique-10.

Carrara et coll. [63], faisant réagir dans l'alcool à 95° l'INH sur l'acide camphosulfonique, ont obtenu des cristaux jaune-citron, se décomposant à 300-302° C ; ce produit, en solution à 2 p. 100 dans l'eau, présente un $[\alpha]_D^{20} = -73{,}91°$; les auteurs italiens lui assignent la structure d'une hydrazidone, apportant comme seule preuve une analyse acidimétrique, conduite en présence de phénolphtaléine, qui donne 98,46 p. 100 de la valeur théorique.

Nous avons repris cette préparation en chauffant au bain-marie 20 cm³ d'alcool à 95° renfermant 10 mM d'INH et 10 mM d'acide camphosulfonique. La solution, fortement colorée en jaune, laisse déposer par refroidissement des cristaux jaune-citron, que l'on recueille et que l'on lave à l'alcool froid.

Ces cristaux jaunes sont très peu solubles dans l'alcool, même à chaud ; ils sont au contraire très solubles dans l'eau, même à froid. On garde une fraction de ces cristaux dont la majeure partie est recristallisée dans un mélange eau, 25-alcool, 75 ; le produit recristallisé est formé de cristaux blancs, qui se montrent très peu solubles dans l'eau. On pratique alors l'analyse acidimétrique des deux composés, en calculant les valeurs théoriques à la fois pour un camphosulfonate d'isoniazide et pour l'*iso*nicotinylhydrazidone de l'acide camphosulfonique. Les échantillons ont été au préalable séchés sous vide phosphorique à 37° C jusqu'à poids constant.

Analyses :

(S) Sel : $C_6H_7ON_3$, $C_{10}H_{16}O_4S$; PM = 369,42.

(H) Hydrazidone : $C_{16}H_{21}O_4N_3S$; PM = 351,42.

a) Produit non recristallisé (jaune) :

Prise d'essai : 202,89 mg, soit 0,54921 mM (S) ou 0,57734 (H).

NaOH 0,4 N ..... { Calculé : 1,373 cm³ (S) ou 1,44 cm³ (H). Trouvé : 1,40 cm³.

b) Produit recristallisé (blanc) :

Prise d'essai : 202,25 mg, soit : 0,54747 mM (S) ou 0,57552 mM (H).

NaOH 0,4 N ..... { Calculé : 1,368 cm³ (S) ou 1,43 cm³ (H). Trouvé : 1,37 cm³.

L'analyse du produit non recristallisé n'est pas très démonstrative ; le chiffre obtenu est cependant un peu plus voisin de la valeur calculée pour le sel ; le produit recristallisé possède le poids moléculaire le plus élevé.

Si nous admettons un poids moléculaire de 369,42, nous ne sommes pas autorisée pour autant à conclure qu'il s'agit d'un sel ; en effet, l'hydrazidone répondrait au même poids moléculaire si elle cristallisait avec une molécule d'eau, ce qui n'est pas exclu si l'on songe au caractère hygroscopique de l'acide camphosulfonique, qui peut cristalliser lui-même avec $\frac{1}{2}H_2O$ [12], $1H_2O$ [110] ou $1\frac{1}{2}H_2O$ [303].

Nous avons alors soumis les deux produits, jaune et blanc,

à l'analyse chromatographique. Les deux composés présentent le même comportement :

— Spot à fluorescence jaune après action de BrCN et NH_3,

— $Rf = 0{,}90$, avec NH_4Cl 0,5 N.

Le Rf observé est donc nettement supérieur à celui de l'isoniazide. Si nous rapprochons cette constatation de nos résultats antérieurs, nous pouvons éliminer une structure saline pour le produit d'action de l'acide camphosulfonique sur le tuberculostatique. Tous les sels d'INH que nous avons examinés se dissocient, en effet, au cours de leur entraînement par la phase mobile. La structure d'*iso*nicotinylhydrazidone proposée par Carrara et coll. [63] se trouve donc confirmée. Il est vraisemblable que l'hydrazidone précipite avec une molécule d'eau de cristallisation, ce qui expliquerait la valeur élevée du poids moléculaire déterminé par acidimétrie.

La différence de coloration entre les cristaux jaunes de l'hydrazidone préparée en milieu alcoolique et les cristaux blancs du produit recristallisé dans un mélange eau-alcool ne doit pas nous surprendre, car de tels phénomènes sont courants dans la série des hydrazones ; la *p*-nitrophénylhydrazone du *p*-diméthylaminobenzaldéhyde cristallise en cristaux rouges à partir du chloroforme, en cristaux verts à partir du benzène [79, 80, 78] ; on connaît également les phénomènes d'isomérie de certaines dinitrophénylhydrazines [310, 361].

Nous allons voir maintenant que l'acide camphosulfonique peut avoir dans d'autres conditions expérimentales un comportement différent : une solution renfermant de l'isoniazide, un composé carbonylé et de l'acide camphosulfonique laisse précipiter parfois le camphosulfonate de l'*iso*nicotinylhydrazidone du composé carbonylé.

B. — Camphosulfonates d'*iso*nicotinylhydrazidones.

1° Camphosulfonate de l'*iso*nicotinylhydrazidone du benzaldéhyde.

Le mélange :

INH ..... 4 mM
Ac. C. S. ..... 4 mM
} dans 12 cm³ d'eau

Benzaldéhyde ..... 4 mM dans 2 cm³ d'alcool

se colore en jaune ; on le chauffe au bain-marie pendant cinq minutes ; par refroidissement, on obtient un précipité

cristallin jaune-clair, soluble dans l'alcool froid, soluble dans l'alcool à 50°, insoluble dans l'eau froide, soluble dans l'eau chaude. Par recristallisation dans l'eau, on obtient de beaux cristaux jaune pâle, fluorescents en jaune en lumière ultra-violette.

Analyse :

$C_{23}H_{27}O_5N_3S$ (PM = 457,53 ; F = 211° C).

	% C	% H	% N
	—	—	—
Calculé	60,37	5,94	9,18
Trouvé	60,56	6,31	9,42
	60,65	6,02	9,52

2° Camphosulfonate de l'*iso*nicotinylhydrazidone du salicylaldéhyde.

On maintient dix minutes au bain-marie, puis on laisse refroidir le mélange :

INH ..... 4 mM
Ac. C. S. ..... 4 mM
} dans 2 cm³ d'eau

Salicylaldéhyde .... 4 mM dans 14 cm³ d'alcool

Les cristaux jaunes qui se séparent sont recristallisés dans l'alcool à 90° ; ils présentent une forte fluorescence jaune en UV.

Analyse :

$C_{23}H_{27}O_6N_3S$ (PM = 473,53 ; F = 262° C).

	% C	% H	% N
	—	—	—
Calculé	58,33	5,74	8,87
Trouvé	58,46	6,19	8,95
	58,76	6,03	8,94

3° Camphosulfonate de l'*iso*nicotinylhydrazidone de l'héliotropine.

Le dérivé de l'héliotropine (ou pipéronal, méthylène-dioxy-3,4-benzaldéhyde) est préparé selon le protocole suivant :

INH ..... 10 mM
Ac. C. S. ..... 10 mM
} dissous dans 2,5 cm³ d'eau

Héliotropine ..... 10 mM dans 13 cm³ d'alcool.

Après chauffage au bain-marie (coloration orangée), le

mélange est abandonné à la température du laboratoire : aucun précipité ne se produit ; on met en glacière et l'on recueille bientôt d'abondants cristaux orange ; on les recristallise dans l'alcool ; en UV, apparaît une belle fluorescence jaune.

Analyse :

$C_{24}H_{27}O_7N_3S$ (PM = 501,54 ; F = 255° C).

	% C	% H	% N
Calculé	57,47	5,42	8,37
Trouvé	57,61	5,56	8,18
	57,65	5,63	8,19

4° Camphosulfonate de l'*iso*nicotinylhydrazidone de l'aldéhyde anisique.

Le protocole précédent a été légèrement modifié :

INH ..... 10 mM
Ac. C. S. ..... 10 mM } dans 3 cm³ d'eau
p-Méthoxybenzaldéhyde 10 mM dans 20 cm³ d'alcool.

Un précipité apparaît dès le refroidissement à la température ambiante ; la recristallisation dans l'alcool fournit de longues aiguilles jaunes, fluorescentes en UV (fluorescence jaune). Le produit est insoluble dans l'eau et devient blanc au contact de ce solvant.

Analyse :

$C_{24}H_{29}O_6N_3S$ (PM = 487,55 ; F = 216° C).

	% C	% H	% N
Calculé	59,12	6,03	8,61
Trouvé	59,26	6,17	8,69
			8,64

5° Camphosulfonate de l'*iso*nicotinylhydrazidone du *p*-diméthylaminobenzaldéhyde.

Nous employons les mêmes conditions de préparation que pour le dérivé du salicylaldéhyde. On obtient ainsi un magnifique précipité rouge, qui devient jaune au contact de l'eau ; aussi la recristallisation en est-elle effectuée dans l'alcool à 95° ; les cristaux rouges ainsi obtenus ont une fluorescence rouge en UV.

Examiné au microscope à point de fusion, le produit subit un remaniement à 202° C mais ne fond qu'à 214° C.

Analyse :

$C_{25}H_{32}O_5N_4S$ (PM = 500,60 ; F = 214° C).

	% C	% H	% N
Calculé	59,97	6,44	11,19
Trouvé	59,98	6,61	11,30

6° Camphosulfonate de l'*iso*nicotinylhydrazidone du *m*-nitrobenzaldéhyde.

Nous employons les produits dans les proportions utilisées pour la préparation du dérivé salicylé. Dès le mélange des solutions aqueuse et alcoolique, on observe l'insolubilisation de cristaux faiblement colorés en jaune : un essai de recristallisation dans l'alcool à 50° entraîne la formation de deux types de cristaux différents : un produit blanc formant une pellicule en surface et un produit jaune de densité supérieure. La recristallisation dans l'alcool absolu nous donne au contraire un produit homogène, non fluorescent en UV qui, après séchage, est soumis à l'analyse élémentaire.

Analyse :

$C_{23}H_{26}O_7N_4S$ (PM = 502,53 ; F = 244° C).

	% C	% H	% N
Calculé	54,96	5,21	11,14
Trouvé	54,79	5,31	10,98

7° Camphosulfonate de l'*iso*nicotinylhydrazidone de l'aldéhyde cinnamique.

Les cristaux orangés de ce sel s'insolubilisent par refroidissement de la solution suivante, préalablement portée dix minutes au bain-marie :

INH ..... 10 mM } dans 4 cm³ d'eau
Ac. C. S. ..... 10 mM }
Aldéhyde cinnamique .. 10 mM dans 20 cm³ d'alcool.

La recristallisation, effectuée à partir de l'alcool bouillant, donne des cristaux plus jaunes que ceux du premier jet ; ce sont ces cristaux jaunes qui sont analysés.

Analyse :

$C_{25}H_{29}O_5N_3S$ (PM = 483,56 ; F = 252° C).

	% C	% H	% N
	—	—	—
Calculé	62,09	6,04	8,69
Trouvé	62,17	6,14	8,67

8° Camphosulfonate de l'*iso*nicotinylhydrazidone du furfural

A 6 mM d'isoniazide, dissous à chaud dans 15 cm³ d'alcool à 90°, on ajoute 1,5 cm³ de furfural fraîchement distillé : il se développe une coloration jaune clair et un précipité de furfurylidène-*iso*nicotinoylhydrazine [66, 67, 285, 130, 30, 327] apparaît bientôt ; on ajoute la quantité d'alcool nécessaire pour le dissoudre entièrement à chaud, soit 15 cm³ ; on dissout enfin dans la solution obtenue 6 mM d'acide camphosulfonique. La présence de l'acide terpénique renforce la coloration jaune et, par refroidissement, on obtient des cristaux jaunes que l'on recristallise dans l'alcool ; ces cristaux ont une fluorescence jaune en UV. L'analyse correspond à un dihydrate, l'eau ayant été cédée en partie par la formation de l'hydrazidone, en partie par le solvant qui n'est pas anhydre.

Analyse :

$C_{21}H_{25}O_6N_3S$, $2H_2O$ (PM = 483,52).

	% C	% H	% N
	—	—	—
Calculé	52,16	6,02	8,69
Trouvé	52,13	6,46	8,66
	52,30	6,17	8,80

L'existence d'eau de cristallisation est confirmée par l'examen du point de fusion au bloc : vers 120° C, on observe une modification très apparente du cristal.

9° Camphosulfonate de l'*iso*nicotinylhydrazidone de la benzylidène-acétone.

Des essais préliminaires de préparation au sein de l'éthanol nous ont montré que le sel était très soluble dans ce solvant et que, de ce fait, les rendements étaient faibles. Nous avons obtenu de meilleurs résultats dans le méthanol.

On ajoute successivement dans 30 cm³ de méthanol chaud 10 mM d'INH, 10 mM d'acide camphosulfonique, puis 10 mM de benzylidène acétone ; le dernier produit entraîne l'apparition d'une belle coloration orangée.

La solution, laissée au repos à température ambiante, se gélifie ; agitée, puis mise en glacière, elle fournit à la longue des cristaux jaunes que l'on recristallise dans le méthanol.

Analyse :

$C_{26}H_{31}O_5N_3S$ (PM = 497,59).

	% C	% H	% N
	—	—	—
Calculé	62,75	6,27	8,44
Trouvé	61,43	6,36	8,73
	61,14	6,46	8,81

C. — Essais infructueux.

Les résultats précédents ne peuvent être étendus à tous les composés carbonylés. Nous avons porté au bain-marie des solutions hydro-alcooliques d'isoniazide, d'acide camphosulfonique et de diverses cétones ; lorsque la cétone se présente à l'état liquide, nous y avons dissous directement l'INH et l'acide camphosulfonique ; quel que soit le protocole adopté, nous avons obtenu en définitive, après recristallisation dans l'alcool à 80°, l'*iso*nicotinylhydrazidone de l'acide camphosulfonique, en mettant en jeu l'acétone, la méthyléthylcétone, la méthylisobutylcétone, la benzophénone, la *p*-aminoacétophénone et la cyclohexanone.

Il est possible que le camphosulfonate d'*iso*nicotinylhydrazidone ait été obtenu d'une manière transitoire : avec les trois cétones aliphatiques, nous obtenons après chauffage une solution jaune qui, évaporée au bain-marie, donne un résidu amorphe fortement coloré ; c'est en essayant d'obtenir notre produit sous forme cristalline que l'on précipite la simple *iso*nicotinylhydrazidone.

Nous n'avons pas été plus heureuse dans la préparation de deux camphosulfonates de deux *iso*nicotinylhydrazidones d'aldéhydes aliphatiques, celles du méthanal et de l'aldéhyde butylique ; avec ces deux composés, nous n'avons jamais observé de précipitation ; par évaporation du solvant, nous

avons obtenu des résidus amorphes, gélatineux, dont nous n'avons pu tirer aucun produit cristallin.

Ainsi donc, les camphosulfonates d'*iso*nicotinylhydrazidones des aldéhydes aromatiques apparaissent beaucoup plus stables et, en tout cas, plus faciles à préparer que ceux des cétones ou des aldéhydes aliphatiques. La benzylidène acétone paraît faire exception dans la série des composés que nous avons expérimentés ; mais le groupement carbonylé de cette cétone voit sa réactivité modifiée par la présence d'une liaison éthénique dans son voisinage immédiat.

III. — *ISO*NICOTINYLHYDRAZIDONES DE MÉTHYLPENTOSES

Un assez grand nombre de composés provenant de l'union de l'isoniazide avec les oses ou les dérivés des oses ont été décrits au cours de ces dernières années. Nous les avons groupés dans le tableau de la page suivante.

On remarquera qu'aucun dérivé des méthylpentoses n'y figure ; nous avons voulu combler cette lacune en étudiant la réaction de l'INH avec deux oses de ce type, le rhamnose et le fucose. On sait que le rhamnose est un constituant de nombreux hétérosides végétaux, notamment du quercitroside ; le fucose, isolé des algues par Maquenne et Tollens, est devenu un principe immédiat biologique de première importance depuis que l'on a montré son existence dans la fraction glucidique de nombreuses glucoprotéines, notamment celles des substances A et O des groupes sanguins [27].

La structure des produits de condensation de l'isoniazide avec les oses n'est pas encore définitivement établie. Nous apporterons plus loin des arguments qui militent contre une structure hétérosidique (voir p. 129).

1° Action de l'isoniazide sur le L(+)rhamnose.

Le produit de condensation est obtenu facilement en chauffant à reflux au bain-marie 10 mM d'ose et 10 mM d'INH dans le méthanol.

On obtient par refroidissement un abondant précipité que l'on recristallise dans le même solvant ; les longues aiguilles obtenues, non fluorescentes, sont très solubles dans l'eau.

COMPOSÉ CARBONYLÉ				F, °C	RÉF.
Oses	Hexoses	Aldohexoses	D-Glucose	160, déc.	[128]
				174 - 176	[153]
				162 - 163	[380]
			D-Glucose + CH_3OH	180 (déc., 130)	[285]
			D-Galactose	161 - 163, déc.	[380]
				180, déc.	[285]
				154,5 - 156	[128]
			D-Maltose + H_2O	80 - 85	[259]
		Cétohexoses	D-Lévulose + $1H_2O$	< 90	[128]
			D-Lévulose + $2H_2O$	64 - 67	[380]
	Pentoses	Aldopentoses	D-Ribose		[380]
			D-Ribose + CH_3OH		[128]
			D-Xylose + $\frac{1}{2}CH_3OH$		[128]
			L-Arabinose	167 - 170	[380]
Osones			D-Glucosone (bis-INH)	204 - 206, déc.	[380]
Osamines			D-Glucosamine + HCl	124 - 127, déc.	[380]
Acides uroniques			Ac. D-galacturonique	212 - 213	[326, 327]
			Ac. D-galacturonique + H_2O	265	[280, 336]
			Ac. D-mannuronique	142 - 143	[52]
Acides uroniques (lactones)			D-Glycuronolactone	150 - 160	[296, 321, 327]
			D-Mannuronolactone	185 - 186	[52]
Dérivés des oses			Streptomycine A+3HCl		[182]
				200 - 202, déc.	[380]
				200, déc.	[298]
			Streptomycine A+3/2 SO_4H_2	230	[298]

Analyse :

$C_{12}H_{17}O_5N_3$ (PM = 283,27 ; F = 204° C).

	% C	% H	% N
Calculé	50,87	6,04	14,83
Trouvé	50,87	6,29	14,76

2° Action de l'isoniazide sur le L(−)fucose.

Le protocole opératoire est identique au précédent. Après recristallisation dans le méthanol, on obtient des cristaux blancs, non fluorescents, solubles à froid dans l'eau, le méthanol et l'éthanol.

Malgré la recristallisation, le produit n'est pas très homogène et semble retenir 1/2 molécule du solvant.

Analyse :

$C_{12}H_{17}O_5N_3$, $\frac{1}{2}CH_4O$ (PM = 299,27 ; F = 172° C).

	% C	% H	% N
Calculé	50,16	6,39	14,01
Trouvé	50,44	6,94	13,04
	50,44	6,42	12,91

IV. — RÉACTION DE L'ISONIAZIDE AVEC QUELQUES COMPOSÉS DICARBONYLÉS

La plupart des *iso*nicotinylhydrazidones relevées dans la littérature concernent des produits de combinaison du tuberculostatique avec des composés dont la molécule ne renferme qu'un seul groupement carbonylé.

On a cependant décrit quelques dérivés provenant de l'action de l'isoniazide sur des composés dicarbonylés ; nous les avons résumés ci-dessous ; les bis-hydrazidones sont plus nombreuses que les produits monosubstitués.

Lorsque ces deux fonctions carbonylées se trouvent en position convenable, on observe des phénomènes de cyclisation ; c'est ainsi que le dialdéhyde succinique, en dehors de la bis-*iso*nicotinylhydrazidone correspondante, peut donner l'*iso*nicottnamidopyrrole (F = 167-169° C [380]) ; la condensation de l'INH avec l'acétylacétone a conduit Fox [133] à

COMPOSÉ CARBONYLÉ	STRUCTURE DU DÉRIVÉ	F. °C	RÉF.
Glyoxal	Monohydrazidone	360	[16]
Glyoxal	Bis-hydrazidone	> 300 360 > 320	[380] [16] [134]
Méthylglyoxal	Bis-hydrazidone	> 300	[380]
Diacétyle	Bis-hydrazidone	> 300 280,5 - 281,5	[380] [134]
Dialdéhyde succinique	Bis-hydrazidone	202 - 203	[380]
Acétylacétone	Monohydrazidone	131 - 133	[380]
Acétylacétone	Bis-hydrazidone	254 - 256	[380]
Acétonylacétone	Bis-hydrazidone + $\frac{1}{2}H_2O$	165,5 - 167,5	[134]
Glucosone	Bis-hydrazidone	204 - 206	[380]

l'*iso*nicotinoyl-1-diméthyl-3,5-pyrazole (F = 86,5-87,5° C) ; l'acétonylacétone, enfin, peut se combiner à l'INH pour former l'*iso*nicotinamido-1-diméthyl-2,5-pyrrole (F = 147-148° C, déc. [380]).

Au cours des essais effectués dans ce travail, nous avons obtenu trois nouvelles bis-*iso*nicotinylhydrazidones de composés dicarbonylés en mettant en œuvre l'aldéhyde téréphtalique, le dialdéhyde vanillique et le dialdéhyde éthylvanillique ; l'*o*-phtalaldéhyde nous a permis d'observer une cyclisation par passage à un sel de phtalazinium.

1° Bis-*iso*nicotinylhydrazidone de l'aldéhyde téréphtalique.

Nous avons opéré en présence d'un excès de composé hydrazidique et avons utilisé le protocole suivant : on verse, dans une solution de 7 mM d'INH dans 5 cm³ d'eau, 10 cm³ d'alcool renfermant 2,5 mM d'aldéhyde téréphtalique ; on observe presque instantanément l'apparition d'un précipité jaune pâle, que le microscope montre constitué de fines aiguilles groupées en oursins.

Le précipité s'avère insoluble dans l'eau, même à chaud,

insoluble dans l'alcool froid, faiblement soluble dans l'alcool bouillant ; on le fait cristalliser, avec assez de difficultés, à partir de ce dernier solvant. L'analyse élémentaire montre qu'il s'agit d'une bis-hydrazidone, dont les cristaux retiennent une molécule des deux solvants utilisés au cours de sa préparation. Le produit possède une fluorescence jaune pâle en UV.

Analyse :

$C_{20}H_{16}O_2N_6$, C_2H_6O, H_2O (PM = 436,44).

	% C	% H	% N
Calculé	60,53	5,54	19,25
Trouvé	59,31	4,71	18,40
	60,70	4,84	18,45

Examinés au microscope à point de fusion, les cristaux ne fondent pas à 300° C ; en élevant encore la température, on observe un changement de structure cristalline, puis sublimation.

2° Bis-*iso*nicotinylhydrazidone du dialdéhyde vanillique.

Le dialdéhyde vanillique (*), ou formyl-5-vanilline (5 mM dissous dans 15 cm³ d'alcool) est chauffé à reflux pendant trente minutes avec de l'isoniazide en excès (12,5 mM dans 15 cm³ d'eau). La solution, colorée en orangé, donne par refroidissement un abondant précipité jaune clair, que l'on recristallise dans l'alcool à 90° ; les petites aiguilles obtenues présentent en UV une vive fluorescence orange ; c'est qu'en effet le composé dicarbonylé utilisé peut également être considéré comme le méthoxy-3-formyl-5-salicylaldéhyde et nous avons rappelé plus haut les fortes fluorescences que l'on observe par action sur le salicylaldéhyde de divers dérivés de l'hydrazine (v. p. 81).

L'analyse élémentaire montre une structure de bis-*iso*nicotinylhydrazidone hydratée.

Analyse :

$C_{21}H_{18}O_4N_6$, $2\frac{1}{2}H_2O$ (PM = 463,41 ; F = 215° C).

	% C	% H	% N
Calculé	54,42	5,00	18,13
Trouvé	54,67	5,01	18,17
	54,83	5,07	18,49

(*) Voir note de bas de page, p. 80.

3° Bis-*iso*NICOTINYLHYDRAZIDONE DU DIALDÉHYDE ÉTHYLVANILLIQUE.

Le dialdéhyde éthylvanillique (*) est l'homologue supérieur du composé carbonylé précédent ; le remplacement dans la molécule d'un hydrogène par un groupement méthyle entraîne un effet batochrome ; le dérivé éthoxylé est beaucoup plus jaune que le dérivé méthoxylé.

La préparation et la recristallisation sont effectuées dans les mêmes conditions que celles décrites dans le paragraphe précédent. Le produit obtenu, jaune clair, cristallise également en aiguilles fortement fluorescentes en UV (fluor. orangée).

Il s'agit également d'une bis-*iso*nicotinylhydrazidone hydratée.

Analyse :

$C_{22}H_{20}O_4N_6$, $3H_2O$ (PM = 486,44 ; F = 188° C).

	% C	% H	% N
Calculé	54,31	5,38	17,27
Trouvé	54,27	5,51	17,42
	54,67	5,54	17,60

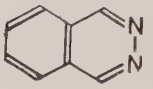
4° Action de l'isoniazide sur l'aldéhyde *o*-phtalique.

Lorsque l'on chauffe pendant quelques instants une solution hydroalcoolique d'aldéhyde *o*-phtalique (7,5 mM dans 30 cm³ d'alcool) renfermant un excès d'INH (21 mM dans 10 cm³ d'eau) on note une coloration jaune et la précipitation rapide, au cours du refroidissement, d'aiguilles blanches, rassemblées en oursins. Ce précipité blanc correspond vraisemblablement à la bis-hydrazidone, mais nous n'en avons pas effectué l'analyse.

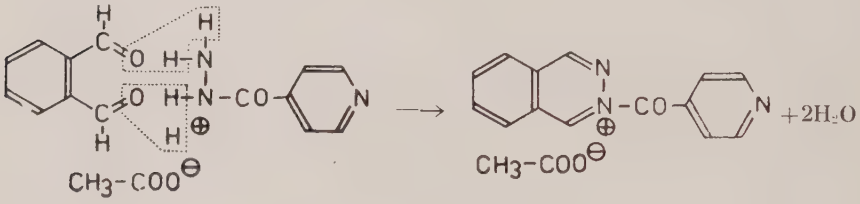
En effectuant une expérience analogue, mais en opérant en présence d'un excès d'isoniazide, nous n'avons obtenu ni coloration ni précipité ; si l'on chauffe alors plus longuement ce mélange à reflux, on observe l'apparition d'une coloration orangée qui devient progressivement brune. L'élévation de température entraîne donc une nouvelle réaction, et le changement de coloration traduit vraisemblablement une cyclisa-

(*) Voir note de bas de page, p. 80.

tion : on sait que l'aldéhyde *o*-phtalique possède la propriété de se combiner avec l'hydrazine pour donner naissance à la phtalazine [142, 141) :



Nous avons pensé qu'une telle réaction était possible avec l'isoniazide ; elle ne peut se réaliser qu'en milieu acide en donnant naissance à un sel de phtalazinium, comme le montre le schéma ci-dessous :



Nous avons donc repris la réaction dans l'acide acétique : pour éviter la formation d'une di-*iso*nicotinylhydrazidone éventuelle de l'aldéhyde *o*-phtalique, nous avons opéré en présence d'un excès de cette dernière substance.

Nous avons versé dans 15 cm³ d'alcool contenant 1,5 g d'*o*-phtalaldéhyde 10 cm³ d'acide acétique dilué au 1/2 et renfermant 1 g d'isoniazide : la coloration jaune initiale fonce rapidement pour devenir brun-rouge foncé ; le lendemain on recueille un précipité cristallin, peu abondant, de couleur marron clair, que l'on recristallise dans l'alcool à 90°. Les cristaux présentent une nette fluorescence brun-orangé en UV ; ils se décomposent vers 170° C. L'analyse est en faveur d'un acétate d'*iso*nicotinoyl-2-phtalazine, cristallisant avec une molécule d'acide acétique et une molécule d'eau.

Analyse :

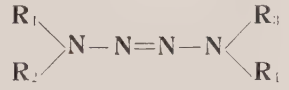
$C_{16}H_{13}O_3N_3$, CH_3COOH, H_2O (PM = 373,34).

	% C	% H	% N
	—	—	—
Calculé	57,90	5,12	11,25
Trouvé	57,39	4,37	11,13
	57,32	4,32	11,34

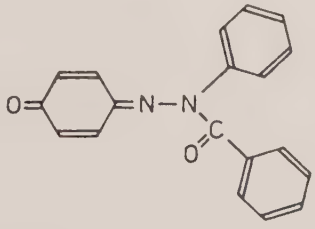
V. — ACTION DE L'ISONIAZIDE SUR QUELQUES QUINONES ET COMPOSÉS QUINONIQUES

Les composés possédant le radical hydrazinique -NH-NH_2 ne réagissent pas seulement sur les aldéhydes et les cétones, mais encore sur ce type particulier de dérivés carbonylés que constituent les quinones. L'action des dérivés de l'hydrazine sur les composés quinoniques est en relation étroite avec la nature du réactif azoté.

Les hydrazines primaires aromatiques, comme la phénylhydrazine, sont oxydées par la benzoquinone et se transforment, après élimination d'azote, en carbures aromatiques [384] ; les hydrazines aromatiques secondaires subissent une oxydation plus légère, qui les transforme en tétrazènes [252, 376], curieux composés dans lesquels quatre atomes d'azote sont directement liés l'un à l'autre :

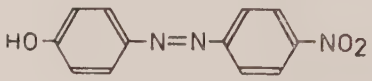


Les quinones peuvent enfin parfois donner de véritables hydrazones : Mc Pherson, dès 1895 [252], montrait que l'action de la phénylbenzylhydrazine asymétrique sur la benzoquinone donnait une hydrazone à laquelle la structure suivante était assignée :



L'acétylphénylhydrazine possède une action similaire [253]; il en est de même de la semicarbazide et de l'aminoguanidine [357]. La structure des produits de condensation a fait l'objet, depuis 1904, d'une série de mémoires de Borsche portant sur les réactions quinones-semicarbazide [33], benzoquinones-formhydrazide [39], quinone oxime-divers hydrazides [34], quinones-dérivés nitrés de la phénylhydrazine [35,

40], quinones-arylsulfonhydrazides [36], quinones-dihydrazides [37, 38]. Cet auteur a montré que les produits obtenus répondaient mieux à la structure représentée par la formule d'un composé oxyazoïque ; le produit de condensation de la benzoquinone avec la *p*-nitrophénylhydrazine serait alors :



Tandis qu'un nombre impressionnant d'*iso*nicotinylhydrazidones d'aldéhydes et de cétones ont été décrites depuis quatre ans, dans la série aliphatique comme dans les séries aromatique et hétérocyclique, nous n'avons trouvé dans la littérature qu'une courte mention relative à l'action de l'isoniazide sur les quinones : Efimovsky et Rumpf [117] signalent que la *p*-benzoquinone oxyde brutalement l'hydrazide *iso*nicotinique ; ces mêmes auteurs rapportent en outre qu'avec la naphtoquinone-1,4, on obtient un mélange de produits très colorés, qui sont peut-être l'hydrazone cherchée et l'hydroxyazoïque correspondant, avec un peu de *bis*-hydrazone.

Nous avons réalisé un certain nombre d'expériences sur la réaction isoniazide-quinones, dont nous rapportons ci-dessous les résultats préliminaires.

1° Action de l'isoniazide sur la *p*-benzoquinone.

Nous avons préparé la *p*-benzoquinone en effectuant, à 10-15° C, une oxydation bichromique de l'aniline en milieu sulfurique ; la quinone est extraite à l'éther et le produit brut est purifié par entraînement à la vapeur d'eau. Nous n'avons utilisé dans nos essais que de la benzoquinone fraîchement préparée.

Nous avons confirmé l'action oxydante de la benzoquinone sur le tuberculostatique en solution aqueuse : lorsqu'on ajoute à une solution saturée de benzoquinone une solution aqueuse d'INH, on remarque, après une coloration verte fugace, l'apparition d'une coloration brune accompagnée d'un dégagement gazeux : un précipité brun s'insolubilise bientôt ; il apparaît amorphe à l'examen microscopique. La coloration verte transitoire est probablement due à la formation de quinhydrone, produit d'addition d'une molécule de quinone

et d'une molécule de son produit de réduction, l'hydroquinone ; on peut rapprocher cette constatation et la formation d'hydroquinone à partir de la quinone, sous l'influence de la phénylhydrazine en solution benzénique [150].

L'action oxydante de la quinone apparaît beaucoup moins violente en solution alcoolique. En opérant avec 20 mM d'INH et 10 mM de benzoquinone, dans 30 cm³ d'alcool, on n'observe pas de dégagement gazeux, même en chauffant légèrement le mélange au bain-marie ; dès que les deux réactifs sont en présence, il se développe une coloration brun-rouge qui fonce au cours du chauffage ; un précipité brun foncé apparaît pendant le refroidissement. On observe des résultats très superposables en opérant avec un excès de benzoquinone.

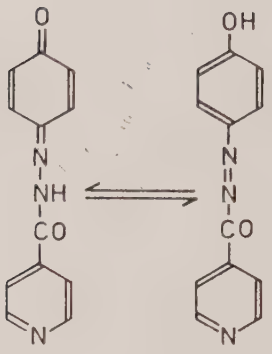
Afin d'éviter au maximum toute destruction oxydative de la chaîne hydrazidique de l'isoniazide, nous avons effectué une nouvelle expérience en prenant soin de ne pas chauffer : on ajoute à 5 mM d'INH, dissous à froid dans 30 cm³ d'alcool, 20 cm³ d'alcool renfermant 1,5 g de quinone. On obtient les mêmes colorations que ci-dessus et on laisse reposer le mélange en glacière. On recueille le lendemain un précipité brun qu'on lave à l'eau glacée ; on le sèche et on le soumet à l'analyse élémentaire, sans recristallisation pour éviter tout chauffage ultérieur. Il s'agit de la mono-*iso*nicotinylhydrazidone.

Analyse :

$C_{12}H_9O_2N_3, 1\frac{1}{2}H_2O$ (PM = 254,22 ; déc. vers 260° C).

	% C	% H	% N
Calculé	56,69	4,75	16,53
Trouvé	56,67	4,31	17,27
	57,15	4,30	16,48

Nous pensons que le produit obtenu peut également exister sous la forme d'un oxyazoïque : nous avons en effet remarqué que sa solution aqueuse très diluée, colorée en jaune, s'éclaircit par acidification, mais devient au contraire beaucoup plus foncée par addition de soude ; on peut donc admettre l'équilibre :



2° Action de l'isoniazide sur la toluquinone.

La préparation de la toluquinone est calquée sur celle de la *p*-benzoquinone.

Pour étudier son action sur l'INH, nous avons opéré en milieu chlorhydrique, suivant un protocole de Borsche [33] : on dissout 8 mM de toluquinone dans 30 cm³ d'alcool et l'on refroidit la solution à 0° C ; on y verse progressivement la solution suivante, elle-même maintenue à 0° C :

INH	9 mM
HCl 2N	10 cm³
Eau	6 cm³

et on laisse la réaction s'effectuer en glacière : une coloration brun-rouge, très vive, se développe bientôt. Après quelques jours, un précipité se dépose, de couleur brun-rouge ; il est constitué de tables quadrangulaires bien cristallisées ; ce produit est insoluble à froid dans l'alcool, légèrement soluble à chaud ; peu soluble dans l'eau froide, il se dissout très facilement à chaud dans ce liquide.

Nous n'avons pas voulu, ici encore, recristalliser ce produit pour éviter tout chauffage et nous l'avons soumis directement à l'analyse, après lavage et séchage. Les résultats analytiques plaident en faveur d'un chlorhydrate de la mono-*iso*nicotinylhydrazidone ; les écarts avec la composition théorique sont évidemment dus à l'absence de recristallisation.

Analyse :

$C_{13}H_{11}O_2N_3$, HCl, $\frac{1}{2}H_2O$ (PM = 286,70 ; déc. vers 200° C).

	% C	% H	% N
	—	—	—
Calculé	54,45	4,57	14,65
Trouvé	53,77	5,51	13,62
	53,94	5,65	13,57

On observe les mêmes changements de coloration qu'avec le dérivé de la *p*-benzoquinone par alcalinisation de la solution aqueuse du produit obtenu.

3° Action de l'isoniazide sur la juglone.

Nous avons purifié une préparation commerciale de juglone, ou hydroxy-5-naphtoquinone-1,4, par entraînement à la vapeur.

Le mélange :

Juglone ..... 2 mM, dans 45 cm³ d'alcool,
INH ..... 2,25 mM, dans 1 cm³ d'eau,
HCl ..... 2,5 cm³

fortement coloré en rouge, est mis en glacière ; après quelques jours de repos, la solution a viré au brun tandis que se forme un précipité de même couleur, qu'on lave et qu'on soumet à l'analyse sans recristallisation (*vide supra*).

Analyse :

$C_{16}H_{11}O_3N_3$, HCl (PM = 329,73 ; déc. vers 210° C).

	% C	% H	% N
	—	—	—
Calculé	58,27	3,66	12,74
Trouvé	59,44	3,85	11,23
	59,13	3,96	11,92

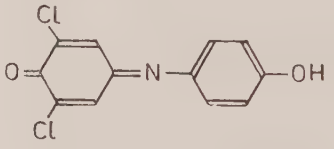
4° Action de l'isoniazide sur différents colorants de structure quinonique.

Un grand nombre de colorants, synthétiques ou naturels, sont des quinones ou possèdent, dans certaines conditions, une structure quinonique. Il était donc intéressant d'étudier l'action de l'INH sur de telles substances. Nous n'avons pas isolé de produits de condensation mais noté des différences de la coloration ou de la fluorescence des solutions de ces

colorants en présence d'isoniazide, ce qui confirme la réactivité du tuberculostatique sur les groupements quinoniques.

a) *Groupe de l'indophénol.*

Nous avons examiné l'action de l'INH sur le dichlorophénol-indophénol, colorant utilisé couramment dans les laboratoires

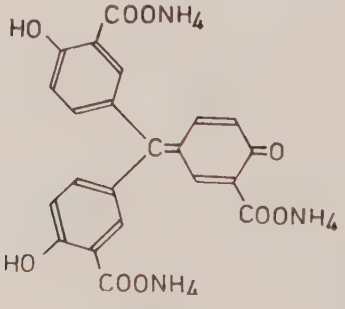


Dichlorophénol-indophénol.

de biochimie pour le dosage de l'acide ascorbique. On remarque sur la formule ci-dessus l'existence d'un oxygène quinonique. La solution aqueuse de ce réactif, fortement colorée en bleue, verdit puis devient brunâtre par addition d'INH ; on observe un précipité brun gélatineux, tandis que l'on note un dégagement gazeux ; en milieu acide (où le colorant a viré au rouge) et en milieu alcalin, on constate une réduction analogue, qui avait été déjà signalée par Wachsmuth [369].

b) *Groupe des dérivés du triphénylméthane.*

Nous avons pris, comme exemple de cette série des dérivés de l'acide rosolique, l'aluminon ou sel d'ammonium de l'acide aurine-tricarboxylique, utilisé comme réactif à la touche de l'aluminium.



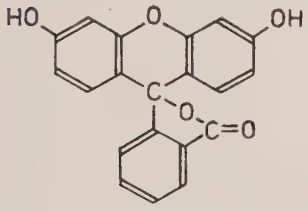
Aluminon.

La solution de ce colorant, rose et légèrement fluorescente en milieu alcalin, se décolore en présence d'INH tandis que la fluorescence disparaît.

c) *Groupe du xanthène.*

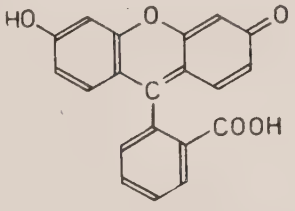
La fluorescence de la fluorescéine diminue en présence d'INH ; le phénomène est surtout marqué en milieu basique. Nous avons bien pris soin d'observer des mélanges ramenés au même *p*H : en raison du pouvoir tampon assez important de l'isoniazide, on obtient, en effet, des *p*H très différents en ajoutant la même quantité de soude (ou d'HCl) à une solution aqueuse de colorant et à la même solution renfermant de l'INH.

L'inhibition plus importante en milieu alcalin se comprend aisément si l'on considère que la fluorescéine existe sous deux formes tautomères, celle existant en milieu alcalin possédant seule un groupement quinonique.



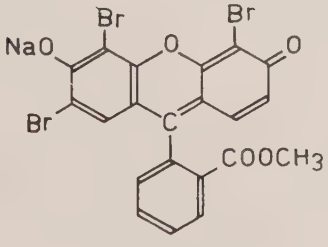
en milieu acide

Fluorescéine



en milieu alcalin

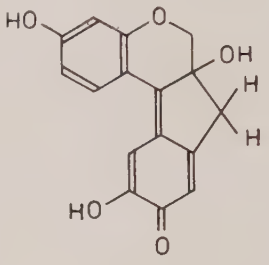
Nous avons observé un résultat très voisin avec la méthyléosine dont la fluorescence est *totalement* éteinte en milieu alcalin en présence d'INH.



Méthyléosine.

d) *Colorants naturels.*

La brésiline, colorant naturel très voisin de l'hématéine, donne des solutions aqueuses incolores en milieu neutre.



Brésiline.

possédant une fluorescence jaune ; la fluorescence devient légèrement verte en milieu acide ; en milieu alcalin au contraire, les solutions sont fortement colorées en rouge et leur fluorescence est violacée ; quel que soit le *p*H, l'isoniazide supprime complètement la fluorescence.

VI. — CONCLUSIONS DU DEUXIÈME CHAPITRE

Le deuxième chapitre de notre travail est consacré à l'action de l'isoniazide sur les composés carbonylés.

1° Nous avons tout d'abord décrit la préparation de deux nouvelles *iso*nicotinylhydrazidones apparentées à la vanilline, les produits de condensation de l'INH avec l'*iso*éthylvanilline (hydroxy-3-éthoxy-4-benzaldéhyde) et avec l'*ortho*éthylvanilline (hydroxy-2-éthoxy-3-benzaldéhyde).

2° Nous avons consacré ensuite plusieurs expériences à l'examen de l'action de l'isoniazide sur l'acide camphosulfonique naturel.

Nous avons montré que le produit préparé par Carrara et coll. et par nous-même est bien une *iso*nicotinylhydrazidone, provenant de l'union du tuberculostatique avec le groupement carbonylé de l'acide sulfonique. En présence d'aldéhydes aromatiques, l'acide camphosulfonique réagit au contraire par sa fonction acide et nous a permis d'obtenir les camphosulfonates des *iso*nicotinylhydrazidones du benzaldéhyde, du salicylaldéhyde, de l'héliotropine, de l'aldéhyde anisique, du *p*-diméthylaminobenzaldéhyde, du *m*-nitroben-

zaldéhyde, de l'aldéhyde cinnamique et du furfural. Les cétones, à l'exception toutefois de la benzylidène acétone qui réagit faiblement, ne peuvent fournir avec l'INH d'hydrazidones en présence de l'acide camphosulfonique.

3° Nous avons montré que l'INH peut se combiner avec les méthylpentoses et nous avons préparé les produits de condensation avec le rhamnose et le fucose.

4° Après avoir passé en revue les produits de condensation de l'isoniazide avec les composés dicarbonylés, nous avons préparé de nouvelles substances entrant dans ce cadre : les bis-*iso*nicotinylhydrazidones de l'aldéhyde téréphtalique ainsi que des dialdéhydes vanillique et éthylvanillique. Avec l'aldéhyde *o*-phtalique, la réaction se montre plus complexe, et, en plus de la bis-hydrazidone probable, nous avons obtenu, à la suite d'une cyclisation, l'acétate d'*iso*nicotinoyl-2-phtalazine.

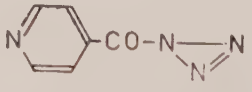
5° Le deuxième chapitre est terminé par la description de nos essais sur la réaction « isoniazide-quinones ». Nous avons pu préparer les mono*iso*nicotinylhydrazidones de la *p*-benzoquinone, de la toluquinone et de la juglone (hydroxy-5-naphtoquinone-1,4) ; les deux derniers composés ont été isolés sous la forme de leur chlorhydrate. Nous rapportons enfin quelques essais préliminaires montrant que le tuberculostatique peut réagir avec la fonction quinonique de certains colorants (dichlorophénol-indophénol, acide aurine-tricarboxylique, fluorescéine, méthyléosine et brésiline).

CHAPITRE III

OXYDATION SÉLÉNIQUE DE L'ISONIAZIDE ET DE QUELQUES SUBSTANCES APPARENTÉES

C'est la chaîne hydrazidique de l'isoniazide qui apporte à la molécule du tuberculostatique son caractère réducteur : le pouvoir réducteur de l'isoniazide se manifeste vis-à-vis de très nombreuses substances organiques ou minérales. Parmi les premières, les acides dinitrobenzoïques, par exemple, sont réduits en milieu basique ainsi que les picrates alcalins [369] ; nous avons signalé dans les pages précédentes la réduction de la *p*-benzoquinone en quinhydrone (v. p. 98). L'oxydation de l'isoniazide par l'hémine, étudiée par KRÜGER-THIEMER [211], puis par ALBERT et REES [4], explique l'inhibition du pouvoir tuberculostatique de l'INH [32, 123]. WACHSMUTH [369] a observé, par ailleurs, qu'une solution d'hémoglobine, en présence d'isoniazide, donne naissance à l'hémochromogène alcaline, reconnaissable à son spectre caractéristique.

La réduction des substances minérales a été largement utilisée pour la caractérisation ou le dosage de l'INH et de nombreux réactifs oxydants ont été proposés. L'acide nitreux transforme l'hydrazide en l'azide correspondant [7, 55, 335, 63] :



L'isoniazide peut être dosé par iodométrie, le plus souvent réalisée en milieu alcalin [5, 8, 58, 60, 64, 178, 204, 379,

109, 202], car en milieu neutre l'oxydation des hydrazides n'est pas totale et ne va que jusqu'à la *bis*-acylhydrazine correspondante [146]. Indiquons encore le dosage du tuberculostatique par les iodates [6, 8, 317, 109], les bromates [85, 178, 379], l'hypobromite [202, 266] ou l'hypochlorite de sodium [266], les ferricyanures alcalins [8, 218, 317, 177, 195, 196, 269], le bichromate de potassium en milieu acide [267, 114, 269, 369], le permanganate de potassium [246, 257, 317, 102, 114, 369] ou les sels de cérium [7, 369, 306]. Nous avons rapporté plus haut la réduction de divers acides minéraux par l'INH (voir p. 37) ; signalons enfin la réduction de la liqueur de Fehling [8, 247, 317, 379, 119] et du nitrate d'argent [6, 8, 247, 335, 379, 119, 114, 202].

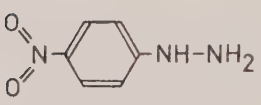
La réduction de l'oxyde de sélénium par l'INH a été beaucoup moins étudiée : simplement signalée par plusieurs auteurs [8, 64, 335, 102], sa sensibilité a été précisée par Gisbert Calabuig et Fernandez Fresneda [156]. Franchi a montré que, dans certaines conditions expérimentales, l'oxydation était complète et que la détermination de l'oxyde de sélénium non consommé permettait un bon dosage de l'isoniazide [136]. Leuschner a utilisé la réduction de l'oxyde de sélénium, qui s'accompagne de la précipitation de sélénium rouge, pour la mise en évidence du tuberculostatique sur les chromatogrammes [223].

Nous avons voulu étudier plus en détail l'oxydation sélénique, non seulement pour tenter d'en pénétrer le mécanisme, mais surtout parce que l'action de l'oxyde de sélénium sur les dérivés de l'hydrazine est peu connue. L'oxyde de sélénium, en effet, à la suite du travail fondamental de Riley, Morley et Friend [314], est essentiellement utilisé pour oxyder les aldéhydes et les cétones en différents composés dialdéhyques, aldéhydocétoniques, ou en dicétones voisines (*). Hinsberg [181] est le premier auteur à mentionner, dès 1890, l'oxydation de la phénylhydrazine par SeO_2 ; son travail est confirmé par Gutbier [170] ; quelques années plus tard, Oeschner de Coninck [284] montrait que l'oxyde de sélénium était capable d'oxyder complètement le chlorhydrate d'hydrazine et le chlorhydrate d'hydroxylamine, l'azote de ces deux substances étant libéré sous forme gazeuse. L'anhydride sélénieux peut être utilisé en chimie analytique comme

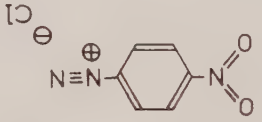
(*) Au sujet des applications de l'oxydation sélénique en chimie organique, consulter la revue générale de Rabjohn [308] ; voir aussi [349, 363, 370].

un réactif assez sensible, non seulement de l'hydrazine et de la phénylhydrazine, mais encore de la semicarbazide et de la phényl-1-semicarbazide ou cryogénine [268] ; réciproquement, Denigès utilise le sulfate d'hydrazine pour déterminer le sélénium des eaux naturelles [105].

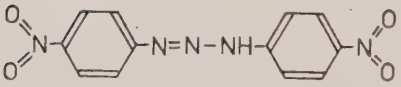
Une étude beaucoup plus complète a été réalisée il y a vingt ans par Postowsky et coll. [305] ; ces chimistes ont démontré que la solution aqueuse de SeO_2, agissant sur les chlorhydrates de phénylhydrazine, de *p*-bromophénylhydrazine, de *m*-nitrophénylhydrazine, d'α-naphtyl- et de β-naphtylhydrazine, conduit au chlorhydrate de diazonium correspondant, facilement identifiable par copulation ultérieure avec le β-naphtol. La *p*-nitrophénylhydrazine, dans les mêmes conditions, fournit en outre le dinitro-4,4'-diazoaminobenzène et la *p*-nitrodiazobenzène imide.



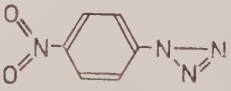
p-Nitrophénylhydrazine.



Chlorhydrate de *p*-nitrobenzène diazonium.

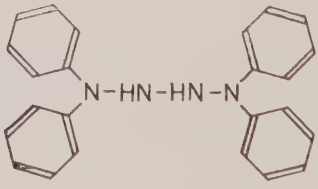


Dinitro-4,4'-diazoaminobenzène.



p-Nitrodiazobenzène imide.

Quant à la diphénylhydrazine asymétrique, elle conduit à un mélange de tétraphényltétrazène et de diphénylamine.



Tétraphényltétrazène.

Dans les pages suivantes, nous étudierons :

— L'oxydation sélénique de l'isoniazide par la technique chromatographique, puis la cinétique de l'oxydation par la technique manométrique. Cette dernière tech-

nique nous permettra d'examiner, dans des conditions identiques :

— L'oxydation sélénique de quelques dérivés de l'isoniazide ;
— L'oxydation sélénique de divers hydrazides cycliques ou aliphatiques ;
— L'oxydation sélénique de diverses hydrazines ;
— L'oxydation sélénique de quelques dérivés hydraziniques de l'acide carbonique.

I. — OXYDATION SÉLÉNIQUE DE L'ISONIAZIDE

1° Etude chromatographique.

Nous avons soumis, à la température du laboratoire, une solution aqueuse d'INH à l'action de quantités croissantes d'anhydride sélénieux, en prenant soin d'opérer à volume

Tubes n°.....		1	2	3	4	5	6
INH, mM (en solution dans 2 cm³)		0,16	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16
SeO_2, mM (en solution dans 2 cm³)		0,04	0,08	0,12	0,16	0,24	0,32
Le lendemain	*p*H	4,81	4,34	3,84	3,34	2,85	2,57
	Aspect du mélange	Se Aig.	Se Aig.	Se Aig.	Se Aig.	Se	Se
Chromatogrammes	Acide *iso*nic.		±	+	++	++	++
	INH	++	+				
	Bis-INH	+	++	++	++	+++	+
	X		+	+	+		

Se = Précipité rouge de sélénium.
Aig. = Grandes aiguilles cristallines incolores.
X = Voir texte.
L'intensité des spots est indiquée par un nombre correspondant de croix.

constant. L'oxydation du tuberculostatique se traduit par un dégagement gazeux immédiat et l'apparition simultanée d'un précipité rouge de sélénium.

Le lendemain, après avoir noté les résultats, on mesure le *p*H des différents mélanges dont on prélève 5 mm³ pour l'examen chromatographique, effectué comme dans nos essais antérieurs (voir les détails de technique p. 45).

Le tableau de la page précédente résume notre expérience.

Puisqu'une molécule de SeO_2 est nécessaire pour l'oxydation complète de l'isoniazide en acide *iso*nicotinique, les proportions stoechiométriques sont réalisées dans le tube n° 4 ; notre expérience couvre donc une gamme assez large de proportions relatives d'INH et d'agent oxydant. Nous pouvons faire les remarques suivantes :

— Le premier stade de l'oxydation du tuberculostatique est représenté par le bis-*iso*nicotinylhydrazide, facilement identifiable par son R*f* et sa fluorescence orangée en UV après traitement par le bromure de cyanogène et l'ammoniaque. C'est le bis-INH qui constitue les grandes aiguilles blanches des tubes 1 à 4.

— Quand la proportion d'oxydant augmente, un deuxième produit d'oxydation apparaît, de R*f* bien différent (R*f* = 0,33 avec NH_4Cl ; R*f* = 0,28 avec NaCl) : ce produit, non identifié avec certitude, est appelé X.

— L'apparition du composé X et celle d'acide *iso*nicotinique, à peine visible dans le tube n° 2, sont simultanées.

— Avec une plus grande quantité d'anhydride sélénieux, le spot d'acide *iso*nicotinique devient plus intense, tandis que X disparaît à partir du tube 5.

— L'isoniazide disparaît rapidement, mais son oxydation à la température ambiante n'est pas complète après vingt-quatre heures, même en présence du double de la quantité théorique de SeO_2.

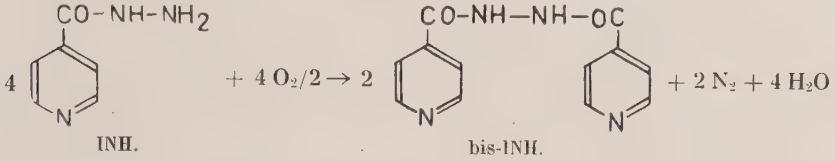
— Nous notons encore la présence de bis-INH dans le dernier tube.

L'ordre d'apparition des produits d'oxydation est donc :

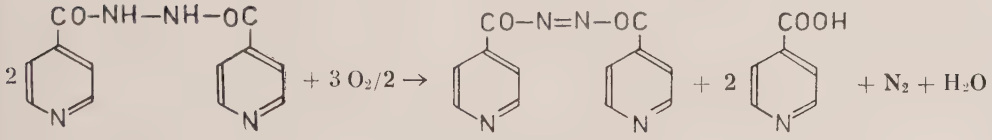
INH → Bis-INH → X → Ac. *iso*nicotinique.

Si nous comparons cette séquence à celle que Merz et Schirm [257] ont proposée, d'après les données établies sur le benzhydrazide par Stolle [350], Curtius [87], Mohr [265] et Darapsky [98, 99], il est vraisemblable que le spot X cor-

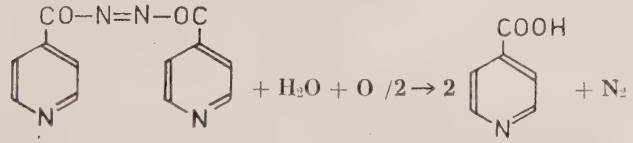
respond à une « di-*iso*nicotinoyl-di-imide », et que l'on observe la suite des réactions suivantes :



INH. bis-INH.



bis-INH. Di-*iso*nicotinoyl-di-imide. Ac. *iso*nicotinique.



Di-*iso*nicotinoyl-di-imide. Ac. *iso*nicotinique.

La persistance du bis-*iso*nicotinylhydrazide et la disparition relativement rapide de la di-imide peuvent être expliquées en tenant compte de la faible solubilité du bis-INH, dont une fraction importante s'élimine de la réaction.

Ce type d'oxydation, avec le bis-INH comme intermédiaire, confirme les résultats obtenus par Albert et Rees [4] au cours de l'oxydation de l'INH par l'hémine ; il n'y a donc pas lieu de penser, avec Krüger-Thiemer [211], que le premier produit d'oxydation est constitué par l'acide *iso*nicotinique, qui, en se combinant ensuite avec l'isoniazide non attaqué, formerait le bis-INH.

Il faut toutefois remarquer que tous les tubes de cette expérience ne sont pas strictement comparables entre eux, car le *p*H baisse tandis que la concentration en agent oxydant augmente ; la baisse de *p*H rend compte également de la disparition des aiguilles de bis-INH dans les derniers tubes, car ce produit d'oxydation de l'isoniazide est soluble dans les solutions aqueuses acides.

Nous avons alors effectué une deuxième expérience, calquée sur la précédente, mais dans laquelle la solution d'anhydride

sélénieux avait été au préalable neutralisée à *p*H = 6,7 par addition de soude. Dans ces conditions, l'oxydation a été beaucoup plus lente et la précipitation du sélénium dans les tubes les plus riches en agent oxydant ne se produit qu'après plusieurs minutes.

La chromatographie des différents échantillons, dont le *p*H est compris entre 6,48 et 6,78, a été réalisée le lendemain et a donné les résultats suivants :

Tubes n°		1	2	3	4	5	6
Chromatogrammes	Acide *iso*nicot.	±	±	±	±	±	±
	INH	+++	+++	+++	++	++	++
	bis-INH			±	+	+	+
	X				+	+	+

La différence avec l'expérience précédente est frappante : ici, malgré l'excès d'agent oxydant, le tuberculostatique est présent dans tous les tubes. L'élévation de *p*H favorise la formation de l'*iso*nicotinate de sodium, sel assez hydrosoluble.

2° Etude manométrique.

Puisque l'oxydation sélénique de l'INH libère de l'azote, la mesure du dégagement gazeux au cours de la réaction doit fournir une technique simple pour suivre la cinétique de la réaction ; bien plus, la détermination de la quantité d'azote libérée permet de savoir si l'oxydation a été complète ou si elle s'est arrêtée à l'un des stades dont nous venons de montrer l'existence par nos essais chromatographiques.

Pour étudier la cinétique du dégagement gazeux, nous avons utilisé la technique manométrique de Warburg. Après plusieurs essais préliminaires, nous avons adopté le protocole suivant :

Protocole :

On introduit dans le grand compartiment annulaire d'une fiole de Warburg 5 µM d'INH, dissous dans 2 cm³ d'eau ; dans le diverticule latéral, on dépose 50 µM d'oxyde de sélénium en solution dans 0,2 cm³ d'eau ; le puits médian de la fiole n'est pas utilisé.

Après quinze minutes de séjour dans le bain thermostatique à 37,05 ± 0,02° C, on mélange intimement les deux liquides et l'on suit sur le manomètre le dégagement gazeux en fonction du temps, les fioles étant agitées à la cadence de 120 coups par minute, l'amplitude d'oscillation étant de 3,5 cm. On opère donc en présence d'un grand excès d'agent oxydant. La plupart de nos expériences ont été réalisées en double.

Calcul des résultats :

Le volume étant maintenu constant, le dégagement gazeux se traduit par une ascension du liquide de Brodie dans la colonne de gauche des manomètres. Après avoir effectué la correction thermo-barométrique de la dénivellation observée, on calcule le volume d'azote libéré au moyen de l'équation suivante (*) :

$$V = l \times k$$

V = volume d'azote dégagé en mm³.
l = dénivellation en mm, après correction thermobarométrique.
k = constante de fiole.
La constante de fiole k est elle-même obtenue par la relation :

$$k = \frac{Vg \frac{273}{T} + Vf\ \alpha}{10.000}$$

Vg = volume, en mm³, de l'atmosphère gazeuse dans la fiole d'expérience (volume total de la fiole et du manomètre jusqu'au trait de repère, diminué du volume Vf des liquides d'expérience).
T = température absolue.
Vf = volume des fluides utilisés.
α = coefficient de solubilité du gaz libéré dans le liquide d'expérience, en cm³ de gaz par cm³ de liquide.
Avec notre protocole :
Vf = 2.200 mm³
T = 310,05
α = 0,0123 (nous avons pris la constante de solubilité de l'azote dans l'eau à 37° C, puisque les solutions utilisées sont peu concentrées).

La détermination de la constante de fiole devient alors simplement :

$$k = \frac{(Vg \times 0{,}8805) + 27{,}06}{10.000}$$

Nous avons exprimé nos résultats en pourcentage d'azote dégagé en fonction du temps, 5 µM d'INH totalement oxydés devant libérer 5 µM d'azote, soit 22,4 mm³ × 5 = 112 mm³. Nous avons tenu

(*) Pour plus de détails sur la technique manométrique, consulter l'ouvrage de Umbreit et coll. [360].

compte de la valeur réelle des pesées effectuées pour le calcul de ce pourcentage.

Il est nécessaire de faire une réserve sur la valeur des pourcentages notés au cours des toutes premières minutes de la réaction, car, pour réaliser le mélange des solutions d'isoniazide et d'oxyde de sélénium, il faut sortir la fiole du bain thermostatique pendant quelques secondes afin de réaliser le mélange intime des deux liquides.

a) *Oxydation en milieu acide.*

Dans une première série d'expériences, nous avons étudié

TABLEAU IV

OXYDATION SÉLÉNIQUE DE L'ISONIAZIDE EN MILIEU ACIDE. ETUDE MANOMÉTRIQUE DU POURCENTAGE D'AZOTE DÉGAGÉ EN FONCTION DU TEMPS.

(Les minutes sont indiquées en chiffres gras.)

TEMPS (minutes)	POURCENTAGE D'AZOTE DÉGAGÉ		
	I	I a	I b
1	67,37	49,49	
2	81,83	76,08	78,76
4	85,68		
5		86,16	
7	88,57	87,99	
8			95,44
9	89,53		
10		91,66	
12	92,89		95,44
17		91,66	
19	92,89		
22			94,51
25		91,66	
27	92,89		95,44
32			95,44

l'oxydation de l'isoniazide en milieu acide : le *p*H de la solution d'INH, qui est voisin de 6,5, passe à 2,58 dès l'addition d'anhydride sélénieux. Les résultats de trois expériences sont rapportés dans le tableau IV, qu'illustre la courbe semi-logarithmique de la figure 3.

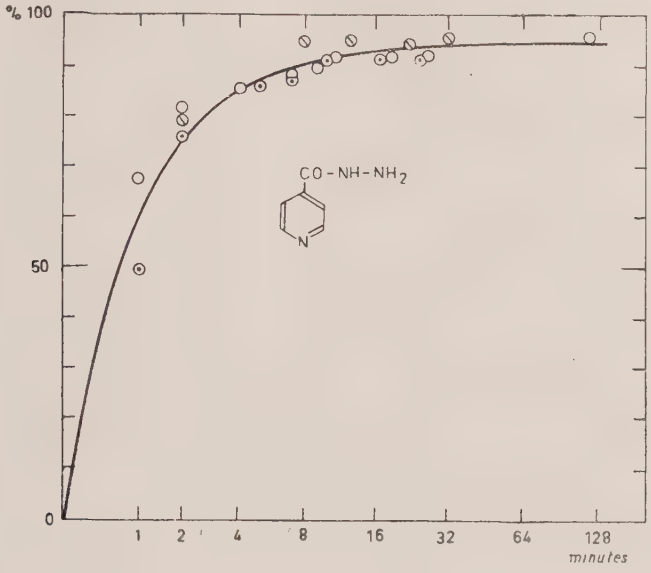


FIG. 3.

Oxydation sélénique de l'isoniazide en milieu acide. Etude manométrique.

Dans les conditions expérimentales choisies, l'oxydation sélénique de l'INH apparaît à la fois rapide et pratiquement totale : dès la dixième minute, plus des neuf dixièmes du tuberculostatique mis en œuvre sont détruits. Nous constatons d'ailleurs l'apparition très rapide, dans la fiole de WARBURG, d'un précipité rouge de sélénium. En raison du dégagement presque quantitatif d'azote, les produits finaux d'oxydation doivent être constitués presque exclusivement par de l'acide *iso*nicotinique.

b) *Influence du pH sur la vitesse d'oxydation.*

Nous avons montré plus haut que l'oxydation de l'INH par une solution neutralisée d'oxyde de sélénium était lente et seulement partielle, puisqu'on retrouve dans le milieu une

TABLEAU V

OXYDATION SÉLÉNIQUE DE
ETUDE MANOMÉTRIQUE DU POURCENTAGE
(Les minutes sont indiquées

I c			II			III		
2	66,58	56,75	1	45,07	59,25	2	13,29	19,21
3		83,40	2	78,88	80,81	3	34,20	
4	83,67	87,70	3	86,69	87,10	4		41,20
5	89,07		4	89,29		5	48,46	46,16
8		90,28	5		88,44	6	54,16	56,09
9	89,07		7	89,72		8	63,66	
13		90,28	11		89,78	9		61,55
14	88,17		13	90,16		10	66,98	
22		89,42	14		90,24	12		68,00
23	88,17		16	89,72		13	73,16	
37		90,28	20		89,79	14		73,85
38	89,52		22	89,29		15	75,06	
			29		89,79	16		74,95
			31	90,16		17	76,97	
			44		90,69	18		78,43
			46	90,16		19	79,34	
						24		80,91
						25	81,72	
						28		82,90
						29	82,66	
						33		82,90
						34	82,66	
						48		84,88
						49	84,56	

'ISONIAZIDE. INFLUENCE DU *p*H.
D'AZOTE DÉGAGÉ EN FONCTION DU TEMPS.
en chiffres gras.)

IV			V		VI		
1		1,72	2	5,82	1	3,82	3,57
2	13,83	12,11	4	14,14	2	7,65	7,14
3	23,06	22,92	5	18,30	3	10,51	
4	31,82		7	24,54	4		13,85
6		33,73	10	33,28	5	16,73	
7	42,43		11	36,61	6		17,88
8		40,66	14	39,10	7	21,52	
9	47,05		18	44,51	8		23,25
10		46,71	21	46,59	9	25,82	
11	52,58		24	49,09	11		25,93
14		53,64	26	51,17	12	28,69	
15	58,11		30	53,25	16	32,99	31,29
18		57,96	35	55,75	18		33,08
19	61,81		39	57,41	19	34,43	
23		61,43	44	59,08	22	38,26	37,11
24	64,58		55	61,57	25	40,16	39,79
27		63,16	68	64,07	28	43,04	42,02
28	68,26				32		44,71
39		68,34			33	44,95	
40	71,95				36		46,50
50		71,37			37	46,86	
51	75,18				41		49,18
					42	48,78	
					52		54,10
					53	53,56	
					64		57,23
					66	56,43	

proportion importante d'isoniazide même en présence d'un excès d'agent oxydant. Nous avons pu préciser ce point par la méthode manométrique. Nous avons étudié à cet effet les mélanges suivants :

Expérience	*p*H de la solution d'anhydride sélénieux	*p*H du mélange final
Ic	1,72	2,43
II	2,40	2,83
III	3,26	3,68
IV	3,45	3,91
V	3,60	4,55
VI	3,70	4,84
VII	7,66	7,92
VIII	8,32	8,61
IX	10,04	10,02

Dans l'expérience Ic, la solution aqueuse d'anhydride sélénieux n'a subi aucune addition de soude ; elle correspond donc aux mélanges I, Ia et Ib utilisés dans le précédent paragraphe et nous a fourni des résultats tout à fait analogues ; une légère neutralisation s'avère sans effet (expérience II) ; lorsque l'on continue la neutralisation, on observe un ralentissement progressif de la vitesse d'oxydation du tuberculostatique (expériences III à VI) ; nous n'avons observé aucun dégagement gazeux dans les trois derniers essais. Le contenu des fioles présentait le lendemain une coloration jaune dans les expériences VII et VIII tandis que le mélange le plus alcalin (IX) restait apparemment inaltéré après vingt-quatre heures.

Nous avons groupé les résultats des expériences Ic à VI dans le tableau V ; le ralentissement de l'oxydation est particulièrement visible sur les courbes de la figure 4.

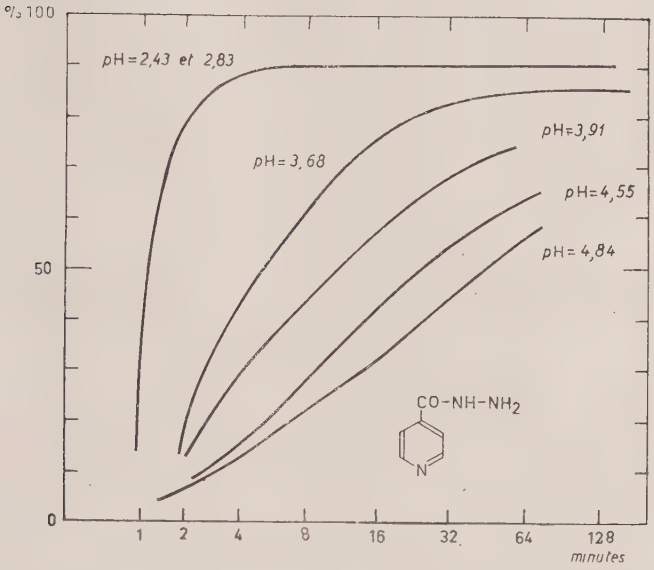


FIG. 4.

Oxydation sélénique de l'isoniazide.
Influence du *p*H. Etude manométrique.

II. — OXYDATION SÉLÉNIQUE DE QUELQUES DÉRIVÉS DE L'ISONIAZIDE

Nous avons examiné, grâce à la technique manométrique, le comportement en présence d'anhydride sélénieux de divers dérivés de l'isoniazide.

1° Oxydation sélénique d'un sel d'INH, le pasiniazide.

Nous avons pris comme objet d'étude le *p*-aminosalicylate d'isoniazide [74], car ce sel jouit d'une certaine faveur dans le traitement de la tuberculose humaine [210, 264, 179] : l'association avec le PAS semble en effet présenter certains avantages sur le simple traitement à l'isoniazide [49, 81, 167, 365, 366].

Le pasiniazide s'oxyde d'une manière absolument superposable à celle de l'INH, comme le montrent les résultats de l'expérience X (tableau VI) réalisée avec le protocole précédemment adopté pour l'isoniazide. Nous avons réuni sur la

figure 5 les courbes de décomposition de l'INH et du pasiniazide.

TABLEAU VI

OXYDATION SÉLÉNIQUE DU PASINIAZIDE.
ETUDE MANOMÉTRIQUE DU POURCENTAGE D'AZOTE DÉGAGÉ EN FONCTION DU TEMPS.
*p*H DE LA SOLUTION DE PASINIAZIDE = 4,12.
*p*H DU MÉLANGE FINAL = 2,47.
(Les minutes sont indiquées en chiffres gras.)

	X	
1	43,87	47,17
2	76,55	77,36
3		88,68
4	87,75	
5		93,40
6	91,49	
7		94,41
8	93,36	
10	93,36	
13		97,23
16	94,29	
44		99,06
47	97,09	

En solution aqueuse, en effet, le pasiniazide, comme d'ailleurs tous les sels d'INH, s'ionise et c'est l'ion pyridinium correspondant à l'isoniazide qui subit l'attaque de l'anhydride sélénieux. Remarquons d'ailleurs, à ce sujet, que le pasiniazide, soumis à l'analyse chromatographique, donne un spot d'INH et un spot fluorescent de R*f* inférieur, qui correspond probablement à l'acide *p*-aminosalicylique.

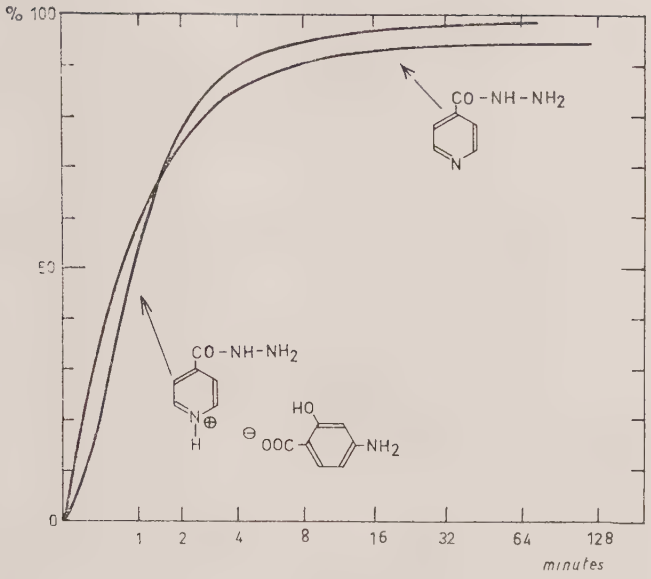


Fig. 5.

Oxydation sélénique comparée de l'isoniazide et du pasiniazide. Etude manométrique.

Au cours de l'attaque du pasiniazide par l'oxyde de sélénium, on n'observe pas la formation du dépôt rouge de sélénium que nous avons noté plus haut avec l'INH ; dès le mélange des solutions de pasiniazide et d'agent oxydant, on remarque l'apparition d'une coloration jaune orangé qui se transforme ultérieurement en un précipité de la même couleur.

2° Oxydation sélénique de diverses *iso*nicotinylhydrazidones.

En conservant toujours le même protocole, nous avons étudié les produits figurant au tableau de la page 124.

Chaque fiole de Warburg contient donc toujours 5 µM d'isoniazide, qui se trouve ici combiné avec différents composés carbonylés. En raison de leur faible solubilité dans l'eau, les *iso*nicotinylhydrazidones des aldéhydes formique, salicylique et vanillique, ont dû être dissoutes dans l'acide chlorhydrique dilué.

TABLEAU VII

OXYDATION SÉLÉNIQUE DI
ETUDE MANOMÉTRIQUE DU POURCENTAG
(Les minutes sont indiqué

XI		XII			XIII		
3	12,15	2		32,78	1	5,47	5,53
6	20,58	3	45,55		3	23,91	
8	29,93	6		64,69	4		23,04
10	38,36	7	70,85		6	33,87	38,72
13	43,97	10		83,29	8	48,81	
16	51,46	11	88,06		9		49,78
19	57,07	105		94,65	11	57,78	
22	61,75	106	92,16		13		63,15
27	68,29				15	68,74	
32	72,97				19		70,98
37	74,85				21	74,72	
41	77,65				22		74,67
44	79,53				24	77,71	
48	80,46				34		78,36
52	81,40				36	83,69	
70	85,14				158		84,81
83	87,01				160	90,16	
					217		86,65
					219	91,66	

IVERSES *iso*NICOTINYLHYDRAZIDONES.
D'AZOTE DÉGAGÉ EN FONCTION DU TEMPS.
en chiffres gras.)

XIV			XV			XVI		
1	13,51		**2**	4,45		**4**	7,50	
3	30,53	26,36	**3**	8,90		**5**		11,15
5	42,04	41,78	**4**	16,03		**6**	12,19	
7		51,72	**5**	20,48		**7**		15,99
8	52,05		**7**	32,06		**10**	16,88	
10	61,06	58,69	**11**	46,31		**11**		20,84
12		66,65	**14**	55,21		**12**	20,63	
13	66,07		**16**		58,43	**13**		23,75
15		71,62	**18**	61,45		**16**	25,32	
17	73,07		**21**	65,90		**17**		28,60
19		76,59	**23**	70,36		**21**	30,01	
23	76,08		**25**		73,04	**22**		34,90
25		79,58	**26**	73,03		**27**	37,98	
26	77,08		**30**	76,59	77,91	**28**		40,72
28		80,57	**33**	78,37	78,88	**30**	41,73	
38	77,58		**37**		81,81	**31**		45,08
40		81,57	**40**		83,75	**38**	46,89	
			41	83,72		**39**		48,96
			44		85,70	**43**	50,17	
			45	85,50		**44**		50,90
			47		86,68	**45**	53,45	
			48	87,28		**46**		53,81
			49		87,65	**50**	57,21	
			52	89,06		**51**		55,75
			56		89,60	**60**	60,02	59,63
			59		90,57	**63**	63,77	63,99
			67		91,55	**69**	67,05	63,02
			71		93,49	**75**	69,40	69,32
			74		94,47	**83**	72,68	70,78
			78		94,47	**95**	77,37	75,63

Expérience	*Iso*nicotinylhydrazidone de l'aldéhyde	Solvant	*p*H de la solution d'*iso*nicotinylhydrazidone	*p*H du mélange final
XI	Formique (*)	HCl, 1,25 p. 100	1,02	1,01
XII	Hydroxypivalique (*)	eau	6,72	2,31
XIII	Salicylique	HCl, 0,5 p. 100	1,34	1,35
XIV	Vanillique	HCl, 0,5 p. 100	1,32	1,34
XV	*m*-Sulfoxybenzoïque(**)	eau	6,68	2,29
XVI	Furfurylique	eau	7,60	2,38

(*) Voir p. 67.
(**) Ou *iso*nicotinylhydrazidone de l'acide *m*-formylbenzènesulfonique ; voir p. 66.

Les six composés examinés sont tous rapidement oxydés par l'oxyde de sélénium, mais l'oxydation se montre cependant moins vive que celle de l'isoniazide ; on peut penser que l'oxydation des *iso*nicotinylhydrazidones s'effectue à la suite de l'hydrolyse de ces dérivés et de la mise en liberté d'INH ; cette hypothèse ne saurait toutefois expliquer complètement les résultats que nous avons obtenus (tableau VII et figure 6), car les produits dissous dans l'acide chlorhydrique dilué, qui favorise l'hydrolyse des *iso*nicotinylhydrazidones, ne sont pas ceux qui s'oxydent obligatoirement le plus vite ; la stabilité de la double liaison dans le dérivé :

$$R—CO—NH—N=CH—R'$$

doit également être prise en considération ; la force de la liaison est influencée par la nature du radical R' porteur du groupement carbonylé.

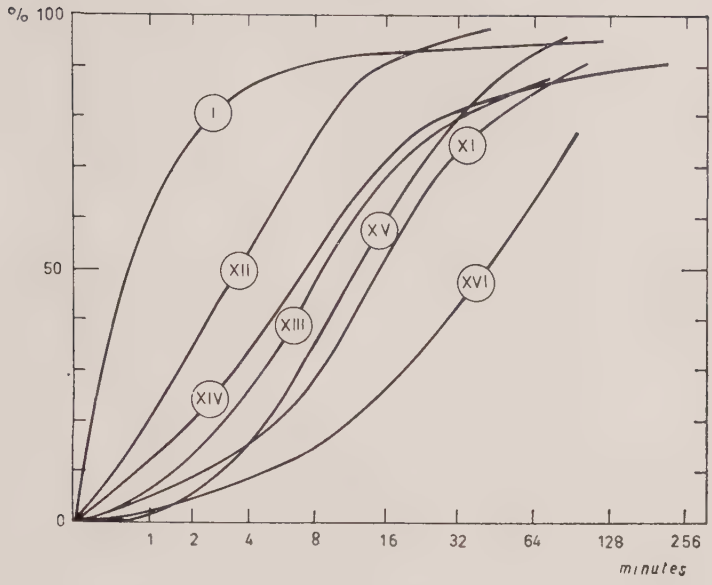


Fig. 6.

Oxydation sélénique comparée de l'isoniazide
et de diverses *iso*nicotinylhydrazidones. Etude manométrique.

3° Oxydation sélénique de diverses N_1-*iso*nicotinoylhydrazines substituées.

Les N_1-*iso*nicotinoylhydrazines substituées se sont montrées très résistantes vis-à-vis de l'oxydation sélénique et diffèrent donc à ce sujet très notablement des *iso*nicotinylhydrazidones du paragraphe précédent. Nous avons étudié des composés appartenant aux séries des hydrazines di-, tri- ou tétrasubstituées, aussi bien par des radicaux alkylés que par des radicaux acylés. Nous avons étudié, par la méthode manométrique, avec le même protocole opératoire, le comportement des composés figurant au tableau de la page suivante.

Tous ces produits (*) sont bien solubles dans l'eau, à l'exception de la bis-*iso*nicotinoylhydrazine, soluble seule-

(*) Pour l'origine ou la préparation de ces différents composés voir pp. 68 et 69. La N_1-*iso*nicotinoyl-N_2-formylhydrazine a été préparée, selon Yale [380], par action directe de l'acide formique sur l'isoniazide. La N_1-*iso*nicotinoyl-N_2-diacétylhydrazine s'obtient par chauffage de l'INH avec un excès d'anhydride acétique [132] ; le point de fusion du dérivé diacétylé (F = 162-163° C) est voisin du point de fusion du dérivé monoacétylé (F = 161-163° C), ce dernier produit provenant du chauffage de l'isoniazide avec un mélange d'anhydride acétique et d'acide acétique ; le chlorhydrate du dérivé monoacétylé a été décrit par Yale (F = 208-209° C [380]).

Série	Exp. N°	N_1-*iso*NICOTINOYLHYDRAZINE SUBSTITUÉE EN	
		N_1	N_2
Hydrazines disubstituées	XVII		Méthyl
	XVIII		Formyl
	XIX		*iso*Propyl (phosphate)
	XX		Sulfométhyl (sel de sodium)
	XXI		Butyryl
	XXII		*iso*Nicotinoyl
	XXIII	Méthyl (oxalate)	
Hydrazines trisubstituées	XXIV		Diméthyl (dichlohydrate)
	XXV		Diacétyl
	XXVI	Méthyl	Méthyl (oxalate)
Hydrazine tétrasubstituée	XXVII	Allyl	Diméthyl

ment à chaud, et qui recristallise au cours de l'expérience effectuée, rappelons-le, à 37° C. Le *p*H du mélange final, mesuré à l'électrode de verre, s'est toujours montré compris entre 2,35 et 2,45.

Dans les conditions où nous avons opéré, nous n'avons observé ni réduction de l'oxyde de sélénium, ni dégagement gazeux appréciable. La N_1-*iso*nicotinoyl-N_2-*iso*propylhydrazine, par exemple, ne libère que 4 p. 100 environ de son azote hydrazinique après cent minutes de contact avec l'anhydride sélénieux. Nous avons obtenu des chiffres légèrement supérieurs avec le méthane sulfonate sodique d'isoniazide (tableau VIII) mais l'allure de la courbe, qui s'infléchit rapidement en plateau (fig. 7), plaide en faveur de l'existence d'une petite proportion d'isoniazide libre dans notre préparation ; nous confirmons ainsi les résultats chromatographiques antérieurs (voir p. 69).

TABLEAU VIII

OXYDATION SÉLÉNIQUE DU MÉTHANE SULFONATE SODIQUE D'INH.
ETUDE MANOMÉTRIQUE DU POURCENTAGE D'AZOTE DÉGAGÉ
EN FONCTION DU TEMPS.
(Les minutes sont indiquées en chiffres gras.)

	XX	
2	7,35	7,79
4		12,12
5	11,04	
6		13,85
7	13,80	
9	13,80	
11		13,85
14	13.80	
19		13,85
22	13,80	

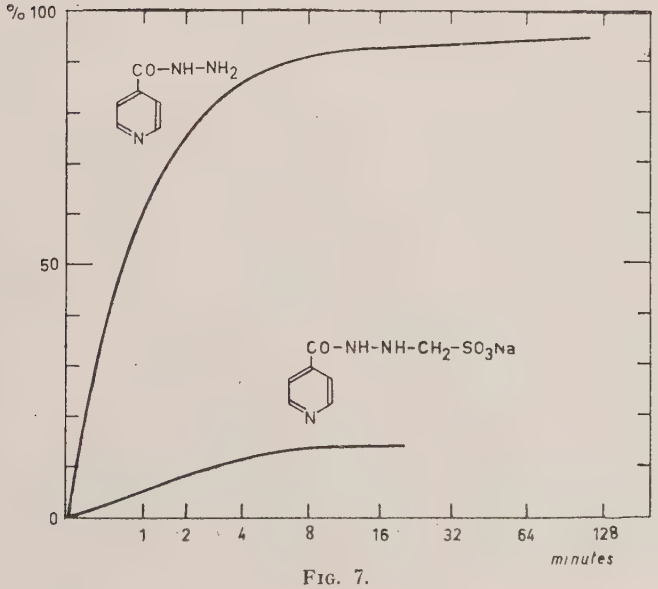
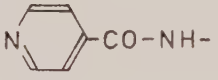


FIG. 7.

Oxydation sélénique comparée de l'isoniazide
et du méthane sulfonate sodique d'INH. Etude manométrique.

Il convient d'insister sur la résistance particulière de la bis-*iso*nicotinoylhydrazine : la solution aqueuse de ce dérivé, faiblement colorée en jaune, voit sa coloration s'accentuer nettement par addition d'oxyde de sélénium ; cet effet batochrome ne provient pas de la baisse de *p*H, car l'acide chlorhydrique, dans les mêmes conditions, fait au contraire disparaître la faible coloration jaune initiale ; mais on n'observe ni dégagement gazeux, ni apparition de sélénium. Or nous avons établi plus haut que le bis-INH devait être vraisemblablement considéré comme un produit intermédiaire, prenant naissance au cours de l'oxydation sélénique de l'isoniazide en acide *iso*nicotinique. Notre dernière expérience vient-elle infirmer l'hypothèse que nous avons émise ? Il semble plutôt que le passage de l'INH à l'acide *iso*nicotinique puisse s'effectuer, suivant les conditions expérimentales, selon plusieurs voies, qui n'empruntent pas obligatoirement le stade du bis-INH. En milieu dilué (cas de nos expériences manométriques), l'oxydation du tuberculostatique s'effectue peut-être, comme le suggèrent Albert et Rees [4], par l'intermédiaire du radical libre :

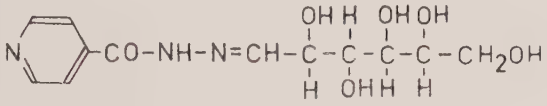


oxydé à son tour en acide *iso*nicotinique. En milieu plus concentré (cas de nos expériences chromatographiques), une partie de ces radicaux libres s'unirait pour donner naissance au bis-INH, cette dernière réaction étant favorisée par l'insolubilité de l'hydrazine N_1,N_2-disubstituée.

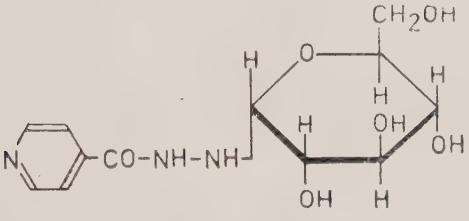
L'influence de la concentration des agents en présence sur l'oxydation de l'isoniazide par l'anhydride sélénieux se confirme très nettement en étudiant l'influence de SeO_2 sur le phosphate du dérivé *iso*propylé de l'isoniazide ; en milieu dilué, comme nous l'avons indiqué ci-dessus, on n'observe pas de réduction de l'oxyde de sélénium, même après plusieurs jours de contact ; en utilisant, au contraire, les concentrations employées dans notre étude chromatographique (voir p. 109), on constate, dès le mélange des solutions, l'apparition d'une coloration jaune qui fait place, après vingt-quatre heures, à une réduction de l'oxyde de sélénium dont l'importance augmente avec le temps ; le sélénium est alors libéré en majeure partie sous la forme de sa variété noire.

4° Oxydation sélénique des dérivés glucidiques de l'isoniazide.

Nous avons donné plus haut la liste des dérivés glucidiques de l'isoniazide décrits au cours de ces dernières années (voir p. 91). L'existence de ces composés pose un intéressant problème de structure. Le produit de condensation de l'INH avec le glucose, par exemple, a été considéré par Yale [380] comme une *iso*nicotinylhydrazidone répondant à la formule suivante :



Fox, au contraire, admet pour le même produit une structure hétérosidique [128] dans laquelle l'ose se trouve sous sa forme cyclique :



Si l'on remarque que la première formule est celle d'une hydrazidone tandis que la représentation hétérosidique correspond à une hydrazine N_1,N_2-disubstituée, l'oxydation sélénique de ces produits devrait permettre d'éliminer l'une des deux formules, puisque nous venons de montrer la grande oxydabilité des *iso*nicotinylhydrazidones, qui les oppose à la stabilité des N_1-*iso*nicotinoylhydrazines substituées.

Nous avons donc étudié le comportement en présence d'oxyde de sélénium de deux dérivés de cette série, les produits de condensation de l'INH avec le glucose (expérience XXVIII) et avec la glycuronolactone (expérience XXIX) ; rappelons que ce dernier produit est utilisé en thérapeutique (*). Les résultats de notre étude manométrique sont rapportés dans le tableau IX et sur les courbes de la figure 8.

(*) Voir p. 66.

TABLEAU IX

OXYDATION SÉLÉNIQUE DES PRODUITS DE CONDENSATION DE L'INH AVEC LE GLUCOSE (XXVIII) ET AVEC LA GLYCURONOLACTONE (XXIX). ETUDE MANOMÉTRIQUE DU POURCENTAGE D'AZOTE DÉGAGÉ EN FONCTION DU TEMPS.

(Les minutes sont indiquées en chiffres gras.)

XXVIII			XXIX		
3	5,06	2,80	**2**		40,29
7	8,29	7,48	**3**		66,12
9	11,06	10,28	**4**	57,51	79,55
12	14,74	14,96	**5**	79,88	83,68
17	19,35	19,64	**8**	89,47	
22	27,75	27,12	**11**		88,85
27	33,18	32,73	**15**		89,88
32	37,79	37,41	**16**	90,53	
37	43,32	43,02	**17**		89,88
42	47,01	46,76	**23**		90,92
47	51,15	50,50	**54**		91,95
52	54,38	54,24			
57	57,15	57,05			
62	59,91	59,85			
67	63,14	62,66			
72	65,44	65,47			
119	77,42	78,56			
199	85,72	86,04			
254	89,86	88,85			
313	88,49	88,85			

L'oxydation a été effectuée, dans les deux cas, à un *p*H voisin de 2,40.

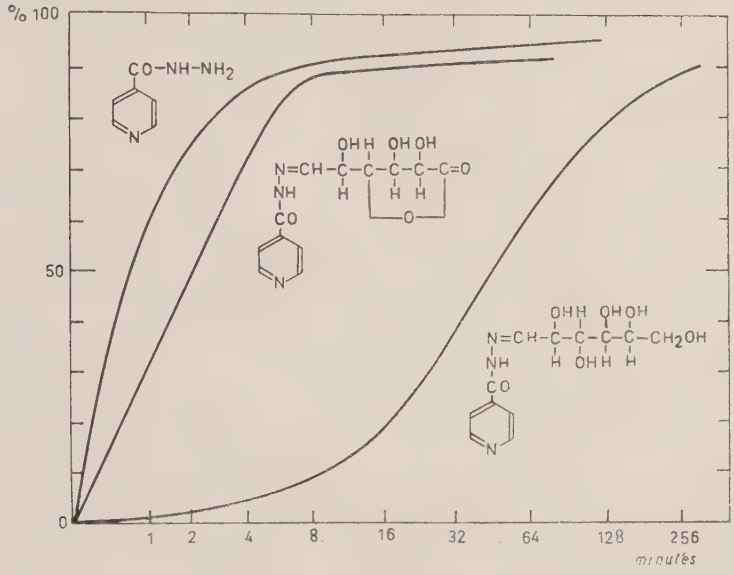


Fig. 8.

Oxydation sélénique comparée de l'isoniazide et de ses produits de condensation avec le glucose et la glycuronolactone. Etude manométrique.

Nos résultats sont très démonstratifs : les deux produits sont rapidement oxydés, l'INHGL avec une vitesse analogue à celle de l'isoniazide, le produit de condensation avec le glucose se rapprochant de l'*iso*nicotinylhydrazidone du furfural. Il nous semble donc difficile d'adopter la structure hétérosidique proposée par Fox [128], à moins d'admettre que les N_1-*iso*nicotinoylhydrazines substituées en N_2 par un radical glucidique différent des autres hydrazines N_1,N_2-disubstituées ; cette dernière hypothèse est évidemment peu probable et nous pensons que les oses réagissent avec l'hydrazide *iso*nicotinique sous leur forme linéaire, pour fournir de véritables hydrazidones. Notons d'ailleurs que la classique formation d'hydrazones et d'osazones, par action sur les sucres réducteurs des phénylhydrazines, fait également appel aux formes linéaires des oses.

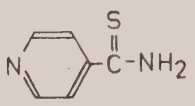
5° Oxydation sélénique de composés pyridiniques plus ou moins apparentés a l'isoniazide.

Nous avons étudié, toujours par la technique manométrique, les trois composés suivants :

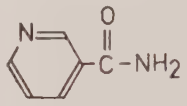
XXX - Hydrazide nicotinique.

XXXI - Thioamide *iso*nicotinique.

XXXII - Amide nicotinique.



Thioamide *iso*nicotinique.



Amide nicotinique.

TABLEAU X

Oxydation sélénique de l'hydrazide nicotinique. Etude manométrique du pourcentage d'azote dégagé en fonction du temps.

(Les minutes sont indiquées en chiffres gras.)

XXX					
2	27,25	40,76	**17**		84,84
3	44,51	57,82	**18**	80,84	
4	57,22		**21**		85,31
5		75,83	**22**	81,75	
6	69,94		**26**		85,31
9		81,52	**27**	82,66	
10	76,30		**32**		85,31
11		83,42	**33**	82,66	85,31
12	78,12		**44**	82,66	85,31
15		84,84	**56**	83,57	85,31
16	79,93		**69**	84,48	86,26
			101	84,93	86,73

L'hydrazide nicotinique, dont nous avons effectué la synthèse par hydrazinolyse de l'amide nicotinique, est facilement oxydé par l'oxyde de sélénium et se rapproche beaucoup de son homologue spatial en γ (tableau X et figure 9).

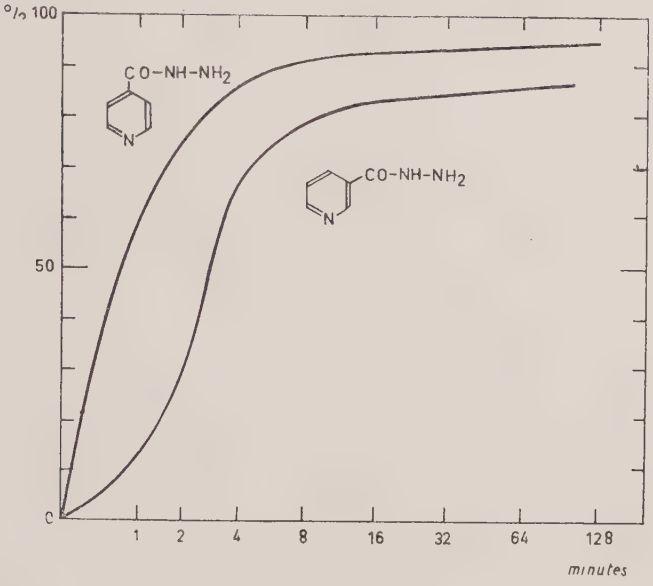


Fig. 9.

Oxydation sélénique comparée des hydrazides nicotinique et *iso*nicotinique. Etude manométrique.

L'amide nicotinique n'est pas attaquée dans nos conditions expérimentales par l'oxyde de sélénium. La thioamide *iso*nicotinique a été récemment étudiée, tant aux Etats-Unis [251, 145, 254] qu'en France [228, 229, 165], en raison de son pouvoir tuberculostatique notable. Cette substance (*), difficilement soluble dans l'eau, ne fournit aucun dégagement d'azote sous l'influence de l'anhydride sélénieux ; on note simplement une légère modification de la teinte jaune pâle de la solution.

III. — OXYDATION SÉLÉNIQUE DE DIVERS HYDRAZIDES AROMATIQUES OU ALIPHATIQUES

Nous avons déjà étudié la destruction oxydative de deux hydrazides hétérocycliques, les hydrazides *iso*nicotinique et nicotinique. Il nous a semblé intéressant d'étendre nos inves-

(*) Aimablement procurée par M. le Dr Libermann, des Laboratoires Théraplix, 5 à 13, rue Gossin, Montrouge (Seine).

tigations à d'autres hydrazides ; nous avons examiné à cet effet des hydrazides de la série aromatique et de la série aliphatique (*).

1° Oxydation sélénique de quelques hydrazides aromatiques.

Les trois dérivés suivants ont été examinés :

Expérience	Hydrazide de l'acide	*p*H	
		de la solution d'hydrazide	du mélange final
XXXIII	benzoïque	6,70	2,47
XXXIV	phénylacétique	6,06	2,40
XXXV	*p*-aminosalicylique	6,04	2,43

et nos résultats consignés dans le tableau XI et sur les courbes de la figure 10.

Les trois hydrazides aromatiques sont oxydés sous l'influence de l'oxyde de sélénium. Le benzhydrazide, synthétisé voici plus de soixante ans par Curtius et Struve [92], a fait l'objet d'études récentes depuis la mise en évidence des propriétés tuberculostatiques de l'INH [29, 129, 339] ; ce produit ne diffère de l'isoniazide que par le remplacement de l'atome d'azote hétérocyclique par un groupement =CH— ; cette simple modification suffit pour annuler le pouvoir tuberculostatique de l'INH ; notons également qu'elle réduit notablement la vitesse d'oxydation par l'oxyde de sélénium.

L'oxydation de l'hydrazide de l'acide phénylacétique [88], dont la chaîne hydrazidique est plus éloignée du noyau aromatique, est encore plus lente.

Signalons que l'hydrazide de l'acide *p*-aminosalicylique, particulièrement étudié à Gènes par Orestano et coll. [287, 292, 288, 289, 290, 293, 76, 190, 191, 294, 192], est largement utilisé en clinique humaine, non seulement en Italie mais encore aux Etats-Unis [174]. Au moment du mélange de la

(*) La majeure partie des hydrazides aromatiques et aliphatiques que nous avons utilisés ont été synthétisés dans notre laboratoire par M. Breton, qui a bien voulu mettre sa collection de produits à notre disposition.

TABLEAU XI

OXYDATION SÉLÉNIQUE DES HYDRAZIDES BENZOÏQUE, PHÉNYLACÉTIQUE ET *p*-AMINOSALICYLIQUE. ETUDE MANOMÉTRIQUE DU POURCENTAGE D'AZOTE DÉGAGÉ EN FONCTION DU TEMPS.

(Les minutes sont indiquées en chiffres gras.)

XXXIII			XXXIV			XXXV		
2		10,19	**2**		2,76	**1**		4,68
3	13,28		**3**	4,11	4,60	**2**	10,17	
5		26,89	**5**	5,94		**3**		12,19
7	29,24		**7**		8,28	**4**	17,28	
9		30,60	**8**	9,60		**5**		20,63
10	38,10		**12**		14,72	**6**	22,37	
11		41,73	**13**	11,43		**8**		30,95
12	39,87		**17**		15,18	**9**	32,54	
14		48,22	**18**	16,94		**10**		39,39
15	51,39		**22**		20,24	**11**	40,68	
16		51,93	**23**	21,03		**13**		45,96
17	54,04		**27**		23,00	**14**	46,78	
19		57,49	**28**	24,23		**16**		51,59
20	60,25		**32**		26,67	**17**	50,85	
22		63,06	**33**	27,89		**20**		59,10
23	64,68		**37**		29,43	**21**	58,98	
24		64,92	**38**	30,63		**27**		66,60
25	66,45		**42**		34,03	**28**	66,11	
27	69,11	67,70	**43**	34,29		**30**		71,29
32	72,65	72,34	**47**		37,71	**31**	69,15	
37	77,97	76,97	**48**	37,04		**106**		91,93
40	80,63	79,76	**52**	39,78	40,47	**107**	89,50	
45	84,17	82,54	**57**	42,52	44,15	**179**		92,62
50	85,94	84,39	**62**	43,90	45,53	**180**	94,58	
55	87,72	86,25	**67**	46,18	46,91	**228**	97,63	
60	88,61	87,17	**114**	62,65	65,31	**288**	99,67	
70	90,38	89,03	**194**	72,71	75,43	**348**	99,67	
185	92,59	94,13	**251**	77,74	81,41			
245	94,80	96,45	**309**	88,02	83,71			

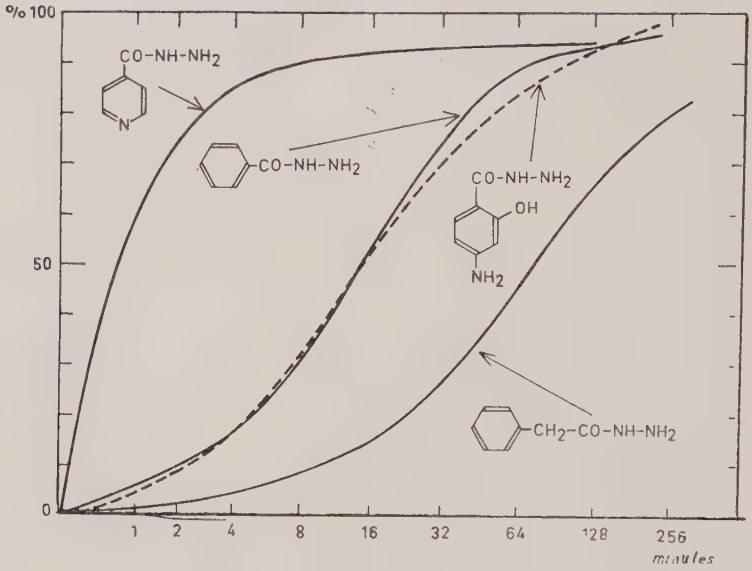


Fig. 10.

Oxydation sélénique comparée de l'isoniazide et des hydrazides benzoïque, phénylacétique et *p*-aminosalicylique. Etude manométrique.

solution aqueuse de ce dernier hydrazide avec la solution d'anhydride sélénieux, on note l'apparition d'une coloration jaune orangé analogue à celle observée au cours de l'oxydation du pasiniazide ; il doit donc se former un complexe d'addition entre SeO_2 et l'acide *p*-aminosalicylique libéré par destruction de l'hydrazide.

2° Oxydation sélénique de divers hydrazides aliphatiques.

Nous avons examiné le comportement en présence d'oxyde de sélénium de trois hydrazides de monoacides aliphatiques, de deux dihydrazides ainsi que du semioxamazide.

Expérience	Composé étudié	pH	
		de la solution d'hydrazide	du mélange final
XXXVI	Hydrazide propionique (chlorhydrate)	2,81	2,30
XXXVII	Hydrazide butyrique (chlorhydrate)	2,62	2,22
XXXVIII	Hydrazide lactique		
XXXIX	Dihydrazide oxalique	5,84	2,40
XL	Semioxamazide	6,18	2,40
XLI	Dihydrazide malonique	6,23	2,48

Nos mesures manométriques sont consignées dans le tableau XII et les courbes qui les illustrent dans la figure 11.

Nous constatons tout d'abord que la vitesse d'oxydation des trois hydrazides des acides propionique [90], butyrique et lactique [89], se montre beaucoup plus faible que celle de l'INH ou celle des hydrazides aromatiques. De plus, les courbes sont pratiquement superposables pour les trois composés ; le remplacement, dans la molécule d'hydrazide propionique, d'un chaînon méthylénique par un groupement alcool secondaire (hydrazide lactique) ou l'adjonction d'un groupement méthylénique supplémentaire (hydrazide butyrique [351, 339] n'entraîne pas de modification de la sensibilité à l'anhydride sélénieux.

Le comportement du dihydrazide oxalique [91, 339], dont la courbe de dégagement d'azote présente une forte pente, n'est pas dû seulement au fait qu'il s'agit ici d'un compose possédant deux groupements hydrazidiques, et donc capable de céder deux fois plus d'azote que l'INH (*) : la rapidité d'oxydation semble être également en rapport avec la présence dans la molécule d'une fonction azotée à l'opposé de la fonction hydrazidique ; nous remarquons en effet que le semioxamazide :

$$\begin{array}{l} CONH - NH_2 \\ | \\ CO - NH_2 \end{array}$$

(*) Nous n'avons pas pu, en gardant le même protocole, étudier complètement l'oxydation sélénique du dihydrazide oxalique, car l'ascension du liquide de Brodie dans le capillaire dépasse rapidement la région où la lecture est possible.

TABLEAU XII

OXYDATION SÉLÉNIQUE DES HYDRAZIDES PROPIONIQUE,
DU SEMIOXAMAZIDE ET DU
ETUDE MANOMÉTRIQUE DU POURCENTAGE
(Les minutes sont indiquées

XXXVI		XXXVII			XXXVIII		
14	3,59	4	2,91		3		2,44
20	5,62	7		1,43	4	1,34	
22	7,67	10	4,37		6		2,44
42	14,83	17		3,86	7	1,34	
55	17,91	20	7,28	6,75	9		3,91
64	19,95	23	9,23		10	3,15	
74	24,04	26		8,68	11		4,89
84	27,12	28		9,65	12	4,05	
96	27,63	29	11,17		16		6,85
106	31,21	31	13,11		17	5,85	
126	34,28	48		19,30	21		10,27
145	40,43	51	17,00		22	8,55	
231	56,81	61		22,19	26		10,76
		64	21,86		27	11,26	
		70		25,09	31		14,68
		73	23,80		32	13,96	
		80		28,96	36		16,64
		83	28,66		37	14,86	
		90		32,82	41		16,64
		93	29,81		42	14,86	
		192		34,27	48		19,57
		105	34,49		49	17,56	
		112		36,68	52	18,46	19,57
		115	36,43		56	20,27	21,53
		132		41,50	86	29,73	30,83
		135	40,32		161	52,70	52,85
		151		44,40	209	67,12	64,11
		154	45,18		237	68,02	67,54
		237		64,19	279	77,03	78,30
		240	64,61		374		92,01

BUTYRIQUE, LACTIQUE, DU DIHYDRAZIDE OXALIQUE,
DIHYDRAZIDE MALONIQUE.
D'AZOTE DÉGAGÉ EN FONCTION DU TEMPS.
en chiffres gras.)

XXXIX			XL			XLI		
1	9,96	8,67	2	10,17	6,62	2	4,36	5,52
2	28,08		3		13,25	4	9,60	
3		38,57	5	22,21		5		12,89
4	57,08		6	31,47	31,23	6	13,96	
5		63,64	7		40,69	8		19,34
7	81,56		9	42,58		9	20,95	
10		89,67	10	50,91		10		25,33
12	102,40		12		49,21	11	26,63	
15		101,25	14	53,69		12		29,01
16		120,53	16		58,67	13	29,25	
17	110,56		19	62,95		15		33,62
18	125,96	127,28	22		64,35	16	34,48	
20		133,07	23	66,66		17		38,23
21		135,96	26		66,25	18	38,85	
			28	68,50		21		43,29
			30		69,08	22	44,53	
			33	70,36	70,98	25		48,36
			36	71,28	76,66	26	48,89	
			39	72,21		32		57,12
			41		77,60	33	61,12	
			43	72,21		40	66,79	68,17
			59		77,60	47	74,65	76,00
			61	77,76		57	82,08	82,91
			71		77,60	67	87,32	91,20
			74	77,76		70		96,27
						80	92,99	99,95
						90	96,92	105,48
						99	104,34	
						103		106,87
						111	104,78	

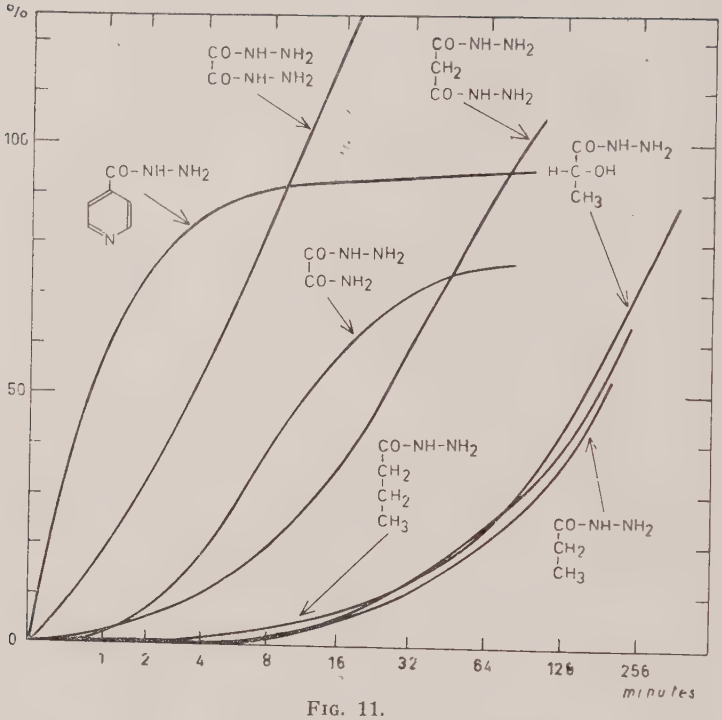


FIG. 11.

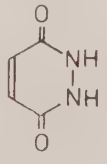
Oxydation sélénique comparée de l'isoniazide et de divers hydrazides aliphatiques. Etude manométrique.

monohydrazide aux multiples applications analytiques [203, 309, 377, 378, 323, 358], se rapproche beaucoup plus par sa vitesse d'oxydation du dihydrazide oxalique que des hydrazides des monoacides aliphatiques.

La réactivité du dihydrazide malonique [91, 53, 339, 230], enfin, apparaît plus faible que celle de son homologue inférieur.

3° Cas particulier de l'hydrazide maléique.

L'hydrate d'hydrazine réagit facilement sur le maléate d'éthyle pour donner naissance à un dihydrazide, l'hydrazide maléique ; cet hydrazide possède la structure cyclique de la tétrahydro-orthodiazinedione-1,4 :



Cette substance a été l'objet de nombreux travaux récents en raison de son action antiauxinique [221, 275]. Bien qu'on la désigne habituellement sous le nom d'hydrazide maléique, la formule ci-dessus nous montre qu'il faut la considérer comme une hydrazine N_1-N_2-disubstituée cyclique. Si les renseignements que nous a fournis l'étude des hydrazines N_1-N_2-disubstituées de la série *iso*nicotinique sont transposables ici, l'hydrazide de l'acide maléique ne doit pas être oxydable, dans nos conditions expérimentales, par l'oxyde de sélénium.

C'est bien ce que nous avons constaté : la solution incolore d'hydrazide maléique (*p*H = 4,29), additionnée de SeO_2 (*p*H du mélange = 2,35), ne subit aucune modification visible et ne donne aucun dégagement gazeux même après plusieurs heures de contact (expérience XLII).

IV. — OXYDATION SÉLÉNIQUE DE DIVERSES HYDRAZINES

Dans les premières pages de ce chapitre, nous avons signalé les rares publications relatives à l'oxydation sélénique de diverses hydrazines ; en dehors du travail plus important de Postowsky et coll., il s'agit le plus souvent de très brèves communications. C'est la raison qui nous a incitée à continuer nos expériences de mesure manométrique en prenant comme substrat différentes hydrazines et en comparant la cinétique du dégagement d'azote à celle observée au cours de la destruction oxydative de l'isoniazide. Nous nous sommes d'abord adressée au composé le plus simple de cette série, l'hydrazine elle-même, dont nous avons étudié le comportement de deux sels en présence d'oxyde de sélénium ; après avoir examiné l'oxydation de la phénylhydrazine et de quelques phénylhydrazines substituées, nous avons complété nos investigations en étudiant l'action de l'anhydride sélénieux sur l'hydrazinophtalazine.

1° Oxydation sélénique de l'hydrazine.

Nous avons utilisé le chlorhydrate et le sulfate d'hydrazine.

Expérience	Produit étudié	*p*H de la solution du sel d'hydrazine	*p*H du mélange final
XLIII	Chlorhydrate d'hydrazine	2,71	2,26
XLIV	Sulfate d'hydrazine	2,75	2,29

Ces deux sels nous ont fourni des résultats presque identiques, que nous avons réunis dans le tableau XIII et sur la courbe de la figure 12.

Comme pour les autres composés précédemment étudiés, le dégagement d'azote est accompagné de la précipitation de sélénium, qui forme un dépôt rouge sur les parois de la fiole. On notera que l'oxydation de l'hydrazine est assez lente ; cette constatation est importante, car elle éclaire le mécanisme d'oxydation des divers hydrazides examinés plus haut ; la rapidité de destruction de l'isoniazide permet d'exclure formellement l'hydrolyse du tuberculostatique en acide *iso*-nicotinique et en hydrazine, hydrolyse qu'on pouvait supposer être réalisée à la faveur de l'acidité du milieu et suivie de l'oxydation de l'hydrazine ainsi libérée.

Nous allons voir d'ailleurs, dans les paragraphes suivants, que différents composés aromatiques hydraziniques s'oxydent également plus vite que la simple hydrazine.

TABLEAU XIII

Oxydation sélénique du chlorhydrate et du sulfate d'hydrazine. Etude manométrique du pourcentage d'azote dégagé en fonction du temps.

(Les minutes sont indiquées en chiffres gras.)

XLIII			XLIV		
7	2,78		**3**		0,00
8		1,95	**5**	0,00	
17	5,57		**9**		2,80
18		4,89	**11**	3,00	
32	9,28		**13**		4,68
33		7,83	**15**	4,00	
47	13,00		**16**		5,61
48		11,75	**18**	6,00	5,61
56	15,78		**20**	5,00	
57		14,68	**21**		7,48
67	18,57		**23**	6,00	8,42
68		17,62	**25**	6,00	
79	20,42		**26**		8,42
80		19,58	**28**	7,00	
149	33,42		**29**		9,36
150		33,29	**31**	8,00	9,36
228	46,42	46,02	**33**	8,00	10,29
278		52,88	**35**	9,00	
299	55,71		**39**	10,00	11,23
300		55,82	**44**	12,00	13,10
337	61,28		**47**	14,01	14,97
338		60,72	**52**	16,01	15,91
397	66,85		**57**	15,01	15,91
398		69,53	**62**	16,01	18,72
			67	17,01	19,65
			77	18,01	20,59
			192	37,53	39,79
			252	48,03	49,62
			312	54,04	58,05

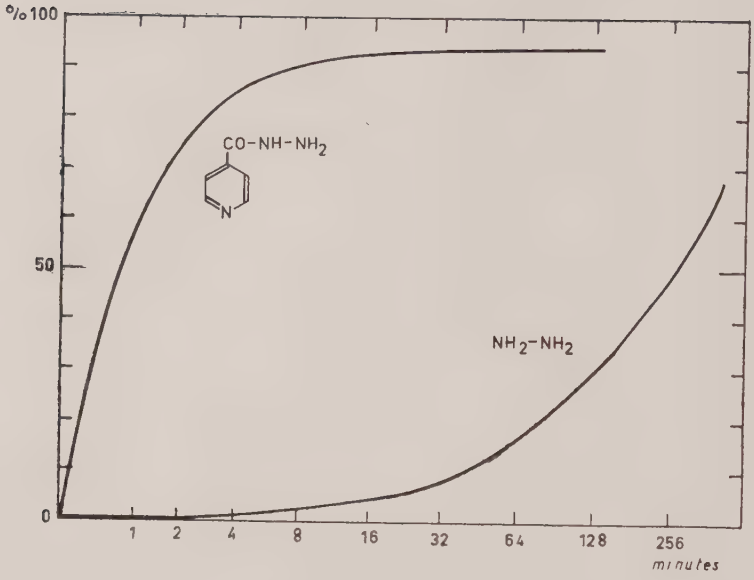


FIG. 12.

Oxydation sélénique comparée de l'isoniazide et de l'hydrazine. Etude manométrique.

2° OXYDATION SÉLÉNIQUE DE LA PHÉNYLHYDRAZINE ET DE QUELQUES PHÉNYLHYDRAZINES SUBSTITUÉES.

Les expériences suivantes ont été réalisées :

EXPÉRIENCE	PRODUIT ÉTUDIÉ	SOLVANT	*p*H DE LA SOLUTION DU COMPOSÉ ORGANIQUE	*p*H DU MÉLANGE FINAL
XLV	Chlorhydrate de phénylhydrazine	eau	3,64	2,34
XLVI	*p*-Nitrophényl-hydrazine	HCl, 5 p. 100	< 1	< 1
XLVII	Dinitro-2,4-phényl-hydrazine	HCl, 5 p. 100	< 1	< 1
XLVIII	*p*-Sulfophényl-hydrazine	eau	3,43	2,34
XLIX	*m*-Carboxyphényl-hydrazine	eau		2,37
L	*p*-Carboxyphényl-hydrazine	eau		2,38

En raison de leur faible solubilité dans l'eau, les deux dérivés nitrés de la phénylhydrazine ont dû être dissous dans l'acide chlorhydrique dilué. Les résultats de nos essais, toujours réalisés avec le protocole de la p. 112, sont inclus dans le tableau XIV et schématisés sur les courbes de la figure 13.

Nous constatons que le chlorhydrate de phénylhydrazine, comme l'avaient déjà remarqué Hinsberg, Gutbier, etc. (*loc. cit.*), est oxydable par l'oxyde de sélénium. La réactivité du composé organique, supérieure à celle de l'hydrazine, est cependant moins accusée que celle du benzhydrazide. C'est que la phénylhydrazine donne probablement lieu, comme dérivé intermédiaire, à un sel de diazonium, selon le schéma proposé par Postowsky et coll. [305] ; ce sel de diazonium, qui ne peut se former à partir des hydrazides, doit être oxydé plus lentement que la phénylhydrazine ; il a cependant complètement disparu du mélange réactionnel le lendemain de l'expérience, car la réaction colorée avec le β-naphtol en milieu alcalin s'avère alors négative.

La substitution, dans la molécule de phénylhydrazine, d'un atome d'hydrogène en position *para* par un groupement nitré inhibe considérablement le dégagement d'azote ; il existe cependant une réduction très nette et très importante de l'oxyde de sélénium, comme le montre l'apparition rapide du précipité rouge. Les résultats sont bien ceux escomptés, en raison de la stabilité particulière du sel de *p*-nitrobenzène diazonium, que nous avons mis facilement en évidence dans le liquide d'expérience en le copulant avec le β-naphtol en milieu alcalin : il apparaît un azoïque fortement coloré en rouge. Remarquons en outre que les autres intermédiaires avancés par Postowsky et coll. (voir p. 108) sont également des composés azotés.

La décomposition assez rapide de la dinitro-2,4-phénylhydrazine s'explique par la labilité du sel de diazonium correspondant.

La présence d'un groupement acide, sulfonique ou carboxylique, ralentit nettement l'oxydation de la chaîne hydrazinique.

TABLEAU XIV

OXYDATION SÉLÉNIQUE DE LA PHÉNYLHYDRAZINE
ETUDE MANOMÉTRIQUE DU POURCENTAG
(Les minutes sont indiquée

XLV			XLVI			XLVII		
3	9,76	7,03	4	0,97	0,42	2	4,78	3,59
7		14,08	6	2,45	2,15	5		9,42
8	17,57		8	3,42		6	13,88	
11		21,12	9		2,15	7		17,05
12	22,45		11	5,38		8	20,10	
14		24,64	13		4,74	11		25,13
15	25,38		15	6,36	6 90	12	27,76	
16		25,52	17	6,85		14		32,31
17	27,34		19		6,46	15	35,41	
19		29,05	21	7,35		19		37,70
20	30,27		26		7,76	20	36,37	
21		29,92	28	8,81		24		41,29
22	31,25		33		8,19	25	41,16	
24		31,69	35	10,28		31		45,78
25	34,18		41		7,76	32	44,99	
27	36,13	35,21	43	9,80		38		50,27
29	38,08	35,21	51		7,76	39	49,77	
31	39,06	36,97	53	9,80		41		52,06
36	41,01	40,49	61		8,19	42	51,69	
41	45,90	44,03	63	10,77		46		54,76
44	46,87	46,66	72		8,19	47	54,56	
49	49,80		74	11,26		152		65,53
54	50,78		82		8,62	153	65,09	
59	53,71	52,82	84	11,75		201		66,43
64	54,68	54,58	92		9,05	202	65,09	
74	58,60		94	12,25		228		66,43
189	66,90	69,10	104		8,62	229	67,01	
249	70,31	72,19	106	12,25		368		73,61
309	70,31	72,19				369	73,71	

T DE QUELQUES PHÉNYLHYDRAZINES SUBSTITUÉES.
D'AZOTE DÉGAGÉ EN FONCTION DU TEMPS.
en chiffres gras.)

XLVIII			XLIX			L		
1	2,83	3,62	**2**	8,82	13,85	**2**	8,54	
3	8,49	9,97	**4**		18,76	**3**		14,58
7	10,38	13,61	**5**	18,11		**4**	17,55	20,05
9	10,38	12,70	**7**	21,36		**5**	19,45	
11	11,32	12,70	**9**		21,44	**7**		23,70
13	10,38	12,70	**12**	25,08		**8**	22,30	
15	10,86	12,70	**14**		26,36	**9**		25,52
17	11 32	13,61	**17**	28 79		**10**	23,25	
22	11,32	15,42	**19**		28,59	**14**		25,52
27	11,80	15,42	**22**	30,65		**15**	23,72	
30	11,32	14,51	**24**		32 17	**19**		26,43
35	13,22	16,32	**27**	34,36		**20**	26,09	
40	12,27	16,32	**29**		33,06	**24**		26,43
45	12,27	17,23	**32**	33,44		**25**	24,67	
50	12,27	17,23	**34**		33,95	**29**		28,26
55	11,32	16,32	**37**	36,22		**30**	27,99	
60	11,32	17,23	**41**		36,63	**34**		27,34
176	11,80	20,41	**44**	39,01	37,53	**35**	27,99	
236	12,27	20,86	**49**		40,21	**39**		26,43
296	14,16	22,68	**52**	41,80		**40**	27,04	
			79		44,23	**46**	27,99	28,26
			82	45,98		**49**	27,99	27,34
			154		44,68	**54**	28,94	29,17
			157	46,44		**84**	27,52	30,53
			202		44,68	**159**	30,84	30,08
			205	46,44	44,68	**207**	31,79	29,17
			231	47,37	44,68	**235**	31,79	29,17
			273	48,30	45,57	**277**	31,79	29,17
			370	49,23	45,57	**372**	32,74	29,62

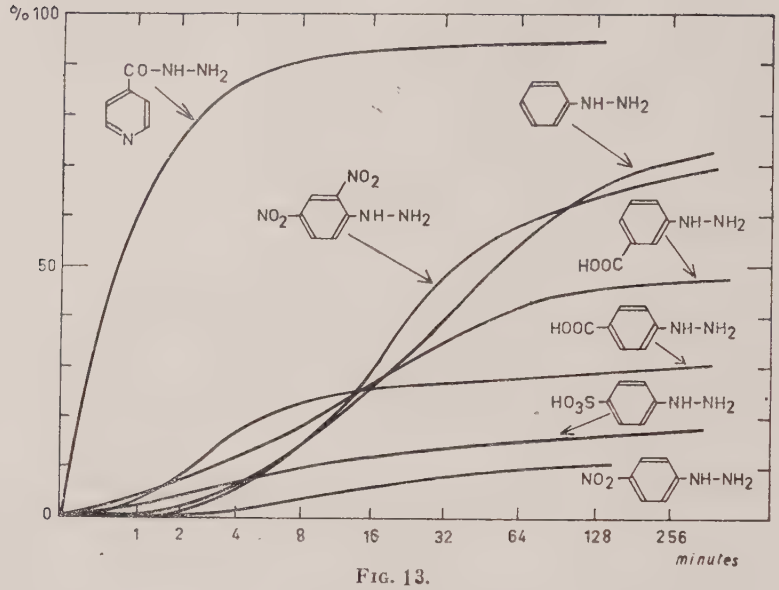


FIG. 13.

Oxydation sélénique comparée de l'isoniazide, de la phénylhdrazine et de quelques phénylhydrazines substituées. Etude manométrique.

3° OXYDATION SÉLÉNIQUE DE L'HYDRAZINO-1-PHTALAZINE.

Pendant des années, les dérivés de l'hydrazine ont constitué un groupe dont les applications thérapeutiques étaient très limitées ; la phénylhydrazine, agent hémolytique puissant, était utilisée dans le traitement de la maladie de VAQUEZ, affection elle-même fort rare ; la phényl-1-semicarbazide ou cryogénine (voir plus loin) connut et connaît encore plus de succès. Quelques mois avant la mise en évidence des propriétés tuberculostatiques de l'hydrazide *iso*nicotinique, un groupe de savants suisses [164, 111] montrait l'action hypotensive des dérivés hydraziniques dans les séries de la phtalazine et de la pyridazine.

Nous avons examiné l'oxydation sélénique du chlorhydrate d'hydrazino-1-phtalazine (*), composé largement employé à l'heure actuelle en clinique humaine et dont la structure se rapproche des dérivés du phtalylhydrazide à action tuberculostatique étudiés par RATSIMAMANGA et coll. [312]. Cet agent

(*) Nous remercions les Laboratoires CIBA, 111, boulevard Vivier-Merle, Lyon, qui nous ont gracieusement fourni ce produit spécialisé en France sous le nom d' « Apressoline ».

hypotenseur, en solution aqueuse (*p*H = 4,88), réduit assez vivement l'oxyde de sélénium (*p*H du mélange final = 2,26) ; les résultats de l'expérience LI sont groupés dans le tableau XV et illustrés par la courbe de la figure 14.

TABLEAU XV

Oxydation sélénique du chlorhydrate d'hydrazino-1-phtalazine. Etude manométrique du pourcentage d'azote dégagé en fonction du temps.

(Les minutes sont indiquées en chiffres gras.)

LI		
6	6,61	7,16
11	23,14	23,72
16	35,43	34,47
21	50,54	47 90
26	59,05	55,51
35	69,91	66,70
44	75,58	72,52
54	80,31	79,23
64	85,03	83,26
72	87,39	86,40
106	88,81	87,74
125	90,23	89,08
170	91,17	90,43
195	90,70	89,53

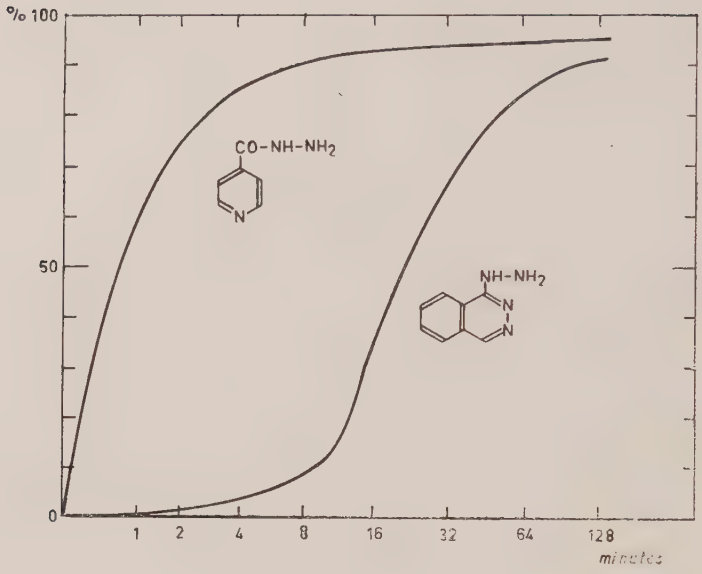


FIG. 14.

Oxydation sélénique comparée de l'isoniazide et du chlorhydrate d'hydrazino-1-phtalazine. Etude manométrique.

V. - OXYDATION SÉLÉNIQUE DE QUELQUES DÉRIVÉS HYDRAZINIQUES DE L'ACIDE CARBONIQUE

Nos essais ont porté sur les dérivés hydraziniques de l'urée, de la thiourée et de la guanidine, c'est-à-dire, respectivement, sur les séries de la semicarbazide, de la thiosemicarbazide et de l'aminoguanidine. Nous avons groupé en un tableau unique (tableau XVI) et sur une seule figure (figure 15) les résultats de notre étude manométrique.

1° Oxydation sélénique de la semicarbazide et de substances voisines.

Nous avons réalisé les expériences suivantes :

Expérience	Produit étudié	pH de la solution aqueuse	pH du mélange final
LII	Chlorhydrate de semicarbazide	3,30	2,33
LIII	Phényl-4-semicarbazide (HCl)	3,34	2,38
LIV	Phényl-1-semicarbazide	6,21	2,35
LV	Urée	5,75	2,39
LVI	Biuret	6,40	2,25
LVII	Chlorhydrate d'hydroxylamine	4,31	2,31

L'oxydation du chlorhydrate de semicarbazide s'avère très lente ; l'introduction dans la molécule de ce composé d'un noyau aromatique, sans modifier la chaîne hydrazidique, conduit à la phényl-4-semicarbazide, dont l'oxydation est nettement plus marquée. Au contraire, la substitution du groupement —NH_2 hydrazidique, que l'on observe dans la cryogénine (*) ou phényl-1-semicarbazide (LIV), inhibe totalement la sensibilité à l'anhydride sélénieux.

Ici encore, les résultats que nous avons obtenus ne sont valables que dans la limite de nos conditions expérimentales : rappelons en effet que Montignie [268] avait montré la réduction de SeO_2 par la cryogénine ; de même, nous n'avons observé aucune modification de la solution de chlorhydrate d'hydroxylamine, dont l'oxydation avait été notée par Œschner de Coninck [284] ; l'addition d'oxyde de sélénium aux

(*) La cryogénine utilisée dans notre expérience nous a été aimablement procurée par les Laboratoires Lumière, 45, rue Villon, Lyon, que nous tenons à remercier ici.

TABLEAU XVI

OXYDATION SÉLÉNIQUE DES CHLORHYDRATES DE SEMICARBAZIDE ET DE PHÉNYL-4-SEMICARBAZIDE, DE LA THIOSEMICARBAZIDE, DE L'AMINOGUANIDINE ET DE LA NITROAMINOGUANIDINE.
ETUDE MANOMÉTRIQUE DU POURCENTAGE D'AZOTE DÉGAGÉ EN FONCTION DU TEMPS.
(Les minutes sont indiquées en chiffres gras.)

LII			LIII			LVIII			LXII			LXIII		
17		3,03	**12**	2,84	2,90	**1**	83,40	62,29	**3**	0,95	0,00	**5**		1,31
18	4,90		**22**	3,79	3,87	**3**		97,08	**19**	0,95	0,09	**6**	0,83	
42	4,90	2,52	**37**	4,75	5,82	**5**	98,56	96,26	**34**	1,91	0,93	**10**	1,68	1,31
68	6,85	4,55	**52**	6,65	7,76	**7**	97,62	97,08	**45**	3,35	2,81	**15**	2,10	3,06
188	12,74	9,10	**61**	8,08	9,71	**9**	97,62	97,08	**52**	3,83	3,75	**25**	2,52	3,50
246	14,70	11,13	**72**	10,45	11,65	**11**	97,62		**57**	4,31	4,22	**36**	2,94	3,50
324	17,64	12,14	**84**	11,40	12,62	**13**	97,62	97,08	**67**	4,31	2,81	**44**	2,94	4,81
334	17,64	14,16	**154**	23,63	28,16	**15**	98,56	97,08	**70**	4,79	3,75	**57**	4,20	6,13
344	18,52	15,80	**232**	39,94	40,80	**18**		97,08	**82**	5,75	5,63	**65**	4,20	6,13
363	20,08	16,70	**282**	55,17	51,48	**20**	98,56		**102**	5,75	5,16	**90**	4,62	7,88
379	21,07	17,20	**304**	59,71	53,43	**25**	98,09	97,08	**223**	14,39	15,96	**214**	8,83	14,89
392	19,60	16,19	**342**	67,53	64,11	**28**	98,56		**283**	17,74	16,90	**273**	8,83	16,64
410	22,54	19,74	**402**	78,94	71,88	**33**	98,56	97,88	**360**	21,10	19,25	**352**	9,25	17,52
494	28,42	25,31				**38**	98,56	98,29	**443**	24,94	23,01	**437**	10,10	18,40

solutions d'urée et de biuret n'a donné lieu à aucun dégagement gazeux.

Nous n'avons pu étudier le diphénylcarbazide et la diphénylcarbazone en raison de leur trop faible solubilité en milieu aqueux.

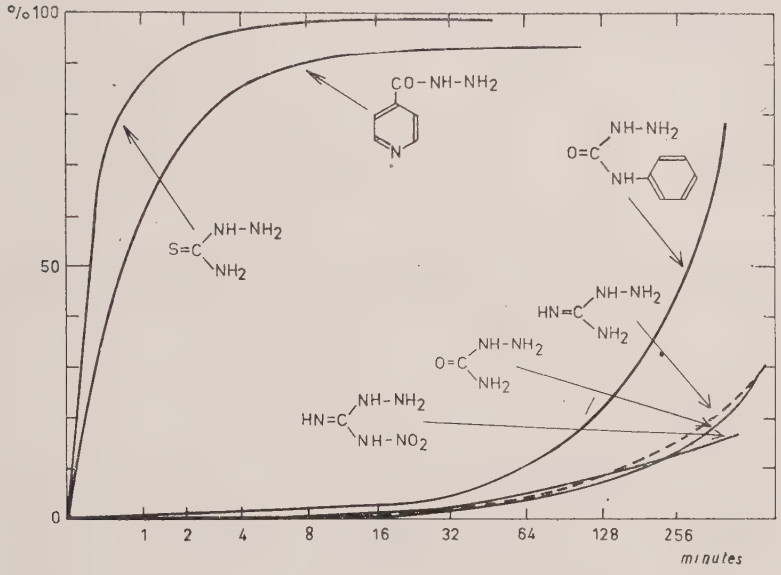


Fig. 15.

Oxydation sélénique comparée de l'isoniazide
et de quelques dérivés hydraziniques de l'acide carbonique.
Etude manométrique.

2° Oxydation sélénique de la thiosemicarbazide et de substances voisines

En dehors de la thiosemicarbazide, nous avons également voulu étudier quelques composés soufrés apparentés, puisque Denigès [105] a insisté sur la sensibilité particulière de la thiourée à l'oxydation sélénique, travail confirmé et étendu à d'autres dérivés soufrés par Werner [374bis].

La destruction de la thiosemicarbazide est pratiquement immédiate et nettement plus rapide encore que celle de l'isoniazide (tableau XVI et figure 15). Cette réactivité particulière est évidemment en rapport avec la présence, dans la molécule de la thiosemicarbazide, de deux fonctions sensibles à

Expérience	Produit étudié	pH de la solution aqueuse	pH du mélange final
LVIII	Thiosemicarbazide	5,84	2,34
LIX	Thiourée	5,77	2,33
LX	Allylthiourée	5,85	2,26
LXI	Phénylthiourée	5,72	2,22

l'oxyde de sélénium, un groupement hydrazinique et un groupement thiol, puisqu'on peut admettre l'équilibre :

La thiourée et l'allylthiourée (utilisée comme médicament antagoniste de la sclérose sous le nom de thiosinamine) n'ont donné lieu à aucun dégagement gazeux, mais nous avons noté l'apparition d'un précipité rouge de sélénium, traduisant la réduction de l'oxyde minéral ; la phénylthiourée, dès son mélange avec la solution de SeO_2, fournit une coloration puis un précipité jaunes.

En raison de la sensibilité particulière de la thiosemicarbazide à l'oxydation sélénique, nous aurions aimé étudier quelques dérivés de ce produit utilisés dans la thérapeutique antituberculeuse ; le seul produit dont nous avons pu disposer, la thiosemicarbazone de l'aldéhyde *p*-acétylaminobenzoïque ou TB_1, n'est malheureusement pas assez soluble en milieu aqueux pour se plier aux conditions de notre protocole général : il en est de même de la diphénylthiosemicarbazone.

3° Oxydation sélénique de l'aminoguanidine et de substances voisines.

Nos essais ont porté sur les substances suivantes :

Expérience	Produit étudié	*p*H de la solution aqueuse	*p*H du mélange final
LXII	Aminoguanidine (HCl)	6,32	2,37
LXIII	Nitroaminoguanidine	4,54	2,37
LXIV	Guanidine (HCl)	5,90	2,26
LXV	Monométhyl-guanidine (HCl)	6,01	2,29
LXVI	*asym.*-Diméthyl-guanidine (HCl)	6,22	2,26
LXVII	Sulfate de dicyandiamidine (*)	4,84	2,26
LXVIII	Dicyandiamide	6,87	2,26
LXIX	Phénylbiguanide (*)	9,82	2,41

(*) Ces produits nous ont été aimablement procurés par les Laboratoires de l'American Cyanamid C°, 30, Rockefeller Plaza, New-York, 20, N.Y.

Seuls les deux premiers dérivés, qui possèdent tous deux une chaîne hydrazinique, se sont montrés oxydables par l'anhydride sélénieux en fournissant un dégagement d'azote. La cinétique de leur destruction oxydative les rapproche de la semicarbazide (tableau XVI et figure 15).

VI. — CONCLUSIONS DU TROISIÈME CHAPITRE

Le troisième chapitre de notre travail est consacré à l'étude de l'oxydation par l'oxyde de sélénium de l'isoniazide et de quelques substances apparentées.

Après avoir rappelé les nombreux agents oxydants capables de réagir sur l'INH et passé en revue les différentes substances azotées dont l'oxydation sélénique a fait l'objet de travaux, nous avons étudié la destruction oxydative de l'isoniazide par SeO_2.

En mettant en œuvre la technique chromatographique, nous avons pu montrer que l'oxydation de l'INH, en milieu acide, conduit à l'acide *iso*nicotinique et que deux composés intermédiaires prennent naissance au cours de la réaction ; l'un d'entre eux a été identifié avec certitude à la bis-*iso*nicotinoylhydrazine, l'autre étant vraisemblablement la di-imide correspondante ; en milieu neutre, les mêmes intermédiaires se retrouvent, mais l'oxydation est incomplète et beaucoup plus lente. La mesure de dégagement d'azote en fonction du temps, réalisée grâce à la technique manométrique de WARBURG, nous a permis de préciser la cinétique de la réaction et l'influence de la concentration en ions hydrogène.

Cette même technique manométrique a été utilisée pour examiner, comparativement à celle de l'isoniazide, la réaction d'oxydation sélénique de 60 composés plus ou moins apparentés au tuberculostatique ; cette étude nous a montré la sensibilité particulière de l'INH vis-à-vis de l'oxyde de sélénium, car seuls deux produits, l'hydrazide nicotinique et le thiosemicarbazide, présentent une vitesse d'oxydation comparable.

Parmi les dérivés de l'isoniazide, l'action de l'anhydride sélénieux permet une différenciation aisée entre les *iso*nicotinylhydrazidones, facilement oxydables, et les *iso*nicotinoylhydrazines substituées, pratiquement inattaquées dans nos conditions expérimentales. Ces données permettent de discuter le mécanisme de la destruction oxydative de l'INH et ont été utilisées pour préciser la structure des dérivés glucidiques de l'isoniazide.

Les hydrazides aromatiques s'avèrent plus sensibles à l'oxydation sélénique que les hydrazides aliphatiques, excepté les cas où ces dernières substances présentent une deuxième fonction azotée dans leur molécule. La faible réactivité de l'hydrazine vis-à-vis de SeO_2 exclut l'hydrolyse préliminaire des hydrazides au cours de leur oxydation sélénique ; l'hydrazine diffère nettement des hydrazines aromatiques ou de l'hydrazinophtalazine, facilement détruites par l'agent oxydant.

Parmi les dérivés hydraziniques de l'acide carbonique, la thiosemicarbazide, substance mère d'une importante série de tuberculostatiques, qui présente deux fonctions oxydables dans sa molécule, se différencie nettement par sa réactivité vis-à-vis de SeO_2 de la semicarbazide, de l'aminoguanidine et de la nitroaminoguanidine.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Notre travail se compose de deux parties bien distinctes, une partie théorique dans laquelle nous avons rassemblé des données éparses dans la littérature chimique, suivie de l'exposé, plus important en volume, de nos recherches originales.

I

Dans la première partie de notre travail, nous avons rappelé les principaux procédés de préparation de l'isoniazide. La synthèse de ce tuberculostatique puissant s'effectue toujours par l'intermédiaire de l'acide *iso*nicotinique, substance dont l'obtention pose de nombreux problèmes à l'organicien. Aussi avons-nous passé en revue les différents modes de préparation de cet acide hétérocyclique ; les uns consistent en la transformation d'un composé possédant déjà le noyau de la pyridine, les autres en des synthèses totales à partir de composés aliphatiques ou aromatiques.

Nous avons terminé cette première partie en indiquant quelques données physico-chimiques concernant notamment la solubilité de l'isoniazide et les caractéristiques chromatographiques de ce composé.

II

Après avoir rappelé quelques points essentiels sur la réactivité de l'azote hétérocyclique des composés pyridiniques et tout particulièrement de l'hydrazide *iso*nicotinique, nous avons exposé le résultat de nos recherches personnelles sur l'action de différents acides sur l'INH.

L'action des acides minéraux nous a permis de décrire cinq sels nouveaux du tuberculostatique : les bromhydrate, iodhydrate, sulfate, phosphate et arséniate. Nous avons consacré de nombreux essais à l'étude de l'interaction entre le tuber-

culostatique et divers acides organiques. Parmi les acides aliphatiques, les diacides donnent très facilement des sels bien cristallisés ; nous rapportons la description des oxalate, malonate, succinate, malate, tartrate, fumarate, adipate et citrate d'INH ; l'obtention de ces sels, neutres ou acides selon les cas, montre que leur cristallisation est plus en rapport avec des facteurs de dimensions moléculaires qu'avec la force des acides. L'acide maléique présente un comportement différent que nous avons interprété par une fixation particulière du diacide éthénique avec formation d'une bétaïne.

Nous décrivons également de nouveaux sels, obtenus en mettant en jeu les acides aromatiques suivants : *o*-toluène sulfonique, nitro-3-phtalique, phénylarsinique, *p*-hydroxyphénylarsinique et hydroxy-4-nitro-3-phénylarsinique.

Ce chapitre est terminé par une étude de la réaction entre certains acides halogénés et l'isoniazide. L'acide monobromacétique donne, en plus d'un sel, une réaction colorée dont nous avons étudié les modalités et la sensibilité ; l'examen systématique de l'action de l'acide monobromacétique sur différents dérivés de l'isoniazide et sur des substances plus ou moins apparentées nous a permis de proposer une hypothèse sur le mécanisme d'action de l'acide halogéné : le sel initial se transformerait en bétaïne, dont l'ouverture en milieu alcalin serait responsable des colorations observées ; l'acide monochloracétique et l'acide α-bromopropionique se comportent d'une manière voisine ; l'acide trichloracétique, au contraire, réagit comme les acides habituels pour donner le trichloracétate correspondant.

III

Le deuxième chapitre de nos recherches originales est consacré à l'action de l'isoniazide sur les composés carbonylés.

Nous avons, tout d'abord, décrit la préparation de deux nouvelles *iso*nicotinylhydrazidones apparentées à la vanilline, les produits de condensation de l'INH avec l'*iso*éthylvanilline et avec l'*ortho*éthylvanilline.

Nous nous sommes attachée ensuite à l'examen de l'action de l'isoniazide sur l'acide camphosulfonique naturel. Nous avons montré, par une étude chromatographique, que le produit préparé par Carrara et ses collaborateurs, puis par nous-même, est bien une *iso*nicotinylhydrazidone, et non pas

un sel de l'acide sulfonique. L'existence d'un tel sel est néanmoins réalisée lorsque l'acide camphosulfonique réagit sur l'INH en présence de divers aldéhydes aromatiques. Nous avons pu obtenir en effet les camphosulfonates des *iso*nicotinylhydrazidones du benzaldéhyde, du salicylaldéhyde, de l'héliotropine, de l'aldéhyde anisique, du *p*-diméthylaminobenzaldéhyde, du *m*-nitrobenzaldéhyde, de l'aldéhyde cinnamique et du furfural. Les cétones, à l'exception toutefois de la benzylidène acétone qui réagit faiblement, ne peuvent fournir avec l'INH d'hydrazidones en présence de l'acide camphosulfonique.

Nous avons montré que la réactivité de l'INH avec les oses peut être étendue aux méthylpentoses et nous avons décrit la préparation des *iso*nicotinylhydrazidones du rhamnose et du fucose.

Après avoir indiqué les produits de condensation de l'INH avec les composés dicarbonylés déjà décrits, nous avons synthétisé de nouvelles substances entrant dans ce cadre : les bis-*iso*nicotinylhydrazidones de l'aldéhyde téréphtalique ainsi que des dialdéhydes vanillique et éthylvanillique. Avec l'aldéhyde *o*-phtalique la réaction se montre plus complexe, et, en plus de la bis-hydrazidone probable, nous avons obtenu, à la suite d'une cyclisation, l'acétate d'*iso*nicotinoyl-2-phtalazine.

Nous terminons ce chapitre par la description de nos essais sur la réaction « isoniazide-quinones », ces derniers composés carbonylés ayant été négligés par la plupart des auteurs qui se sont intéressés à la réactivité chimique de l'isoniazide. Nous avons préparé les mono*iso*nicotinylhydrazidones de la *p*-benzoquinone, de la toluquinone et de la juglone, ces deux derniers composés isolés sous la forme de leur chlorhydrate. Nous rendons compte, enfin, de quelques essais montrant que l'INH peut réagir avec certains colorants à structure quinonique : dichlorophénol-indophénol, acide aurine-tricarboxylique, fluorescéine, méthyléosine et brésiline.

IV

Nous exposons, dans le dernier chapitre, le résultat de notre étude de l'oxydation par l'oxyde de sélénium de l'isoniazide et de quelques substances apparentées.

Après avoir rappelé les nombreux agents oxydants capables de réagir sur l'INH et passé en revue les différentes subs-

tances azotées dont l'oxydation sélénique a fait l'objet de travaux, nous avons étudié l'action oxydative de SeO_2 sur l'isoniazide. En mettant en œuvre la technique chromatographique, nous avons pu montrer que l'oxydation de l'INH, en milieu acide, conduit à l'acide *iso*nicotinique et que deux composés intermédiaires prennent naissance au cours de la réaction ; l'un d'entre eux a été identifié avec certitude à la bis-*iso*nicotinoylhydrazine, l'autre étant vraisemblablement la di-imide correspondante ; en milieu neutre, les mêmes intermédiaires se retrouvent, mais l'oxydation est incomplète et beaucoup plus lente. La mesure du dégagement d'azote en fonction du temps, réalisée grâce à la technique manométrique de Warburg, nous a permis de préciser la cinétique de la réaction et l'influence de la concentration en ions hydrogène.

Cette même technique a été utilisée pour examiner, comparativement à celle de l'isoniazide, l'oxydation sélénique de 60 composés plus ou moins apparentés à ce tuberculostatique. Cette étude nous a montré la sensibilité particulière de l'INH vis-à-vis de l'oxyde de sélénium, car seuls deux produits, l'hydrazide nicotinique et le thiosemicarbazide, présentent une vitesse d'oxydation comparable. Parmi les dérivés de l'isoniazide, l'action de l'anhydride sélénieux permet une différenciation aisée entre les *iso*nicotinylhydrazidones, facilement oxydables, et les *iso*nicotinoylhydrazines substituées, pratiquement inattaquées dans nos conditions expérimentales. Ces données permettent de discuter le mécanisme de la destruction oxydative de l'INH et ont été utilisées pour préciser la structure des dérivés glucidiques de l'isoniazide. Les hydrazides aromatiques s'avèrent plus sensibles à l'oxydation sélénique que les hydrazides aliphatiques, sauf lorsque ces dernières substances présentent une deuxième fonction azotée dans leur molécule. La faible réactivité de l'hydrazine vis-à-vis de SeO_2 exclut l'hydrolyse préliminaire des hydrazides au cours de leur oxydation sélénique ; l'hydrazine diffère nettement des hydrazines aromatiques ou de l'hydrazinophtalazine, facilement détruites par l'agent oxydant.

Parmi les dérivés hydraziniques de l'acide carbonique, la thiosemicarbazide, point de départ d'une importante série de tuberculostatiques, qui présente deux fonctions sensibles à l'oxyde de sélénium dans sa molécule, s'oxyde très brutalement et se différencie ainsi nettement de la semicarbazide, de l'aminoguanidine et de la nitroaminoguanidine.

Vu :

Le Doyen,

R. SIGALAS.

Vu, bon à imprimer :

Le Président,

F. TAYEAU.

Vu et permis d'imprimer :

Bordeaux, le 12 Octobre 1956

Le Recteur,

E. DELAGE.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Ahrens F. B. — Ueber Dipiperidyl und Dipicolyl. *Ber.*, 1888, **21**, 2929-2932.
2. Ahrens F. B. — Ueber Steinkohlentheerbasen. *Ber.*, 1895, **28**, 795-798.
3. Albert A. — The affinity of *Iso*nicotinic Hydrazide for Metals. *Experientia*, 1953, **9**, 370.
4. Albert A. & Rees C. W. — The destruction of isonicotinic acid hydrazide in the presence of haemin. *Biochem. J.*, 1955, **61**, 128-131.
5. Alicino J. F. — The Determination of Nydrazid. — *J. Amer. pharm. Ass.*, sc. Ed., 1952, **41**, 401-402.
6. Amelink F. — Identificatie van enkele nieuwe geneesmiddelen langs microchemische weg. *Pharm. Weekbl.*, 1952, **87**, 821-836.
7. Anastasi A., Mecarelli E. & Novacic L. — Ueber die Anwendung elektrometrischer Methoden zur Bestimmung pharmazeutischer Produkte. VII. Die Bestimmung der Hydrazids der *Iso*-Nicotinsäure. *Mikrochem. mikrochim. Acta*, 1952, **40**, 53-59.
8. Angelico R., Caló A., d'Amore A., Mariani A., Mariani-Marelli O. & Scanga F. — Ricerche sull' idrazide dell' acido *iso*nicotinico. *R. C. Ist. sup. Sanità*, 1952, **15**, 627-703.
9. Arbuzov A. E. — Preparation of 4-4'-bipyridine. *Bull. Acad. Sc. URSS, Classe Sci. chim.*, **1945**, pp. 451-455 ; in *Chem. Abstr.*, 1948, **42**, 5912b.
10. Arens J. F. & Wibaut J. P. — Eine neue Methode zur Einführung von Alkylgruppen in die 4 - Stelle im Pyridinmolekül. 50. Mitteilung über Derivate von Pyridin und Chinolin. *Rec. Trav. chim.*, 1942, **61**, 59-68.
11. Armstrong H. E. & Lowry T. M. — Studies of the Terpenes and Allied Compounds. The Sulphonation of Camphor. I. Camphorsulfonic Acid (Reychler) : the Formation of Anhydramides. *J. chem. Soc.*, 1902, **81**, 1441-1462.
12. Asahina Y. — Ueber die Sulfurierung des Camphers. *Proc. imp. Acad. Japan*, 1937, **13**, 38-40.

13. Ballard C. W. & Scott P. G. W. — Photometric determination of isonicotinylhydrazid and of 4-picoline. *Chem. and Ind.*, **1952**, p. 715.
14. Banchetti A. — Controllo di alcuni prodotti farmaceutici. Nota II. Isonicotinilidrazone del glucuronolattone ed idrazide cianacetica. *Il Farmaco*, Ed. sc., 1955, **10**, 980-983.
15. Barger G. von & Scholz C. — Ueber Yohimbin. *Helv. chim. Acta*, 1933, **16**, 1343-1354.
16. Barry V. C. & Mitchell P. W. D. — The Condensation of Glyoxal and *iso*Nicotinoylhydrazine (Isoniazid). *J. chem. Soc.*, **1953**, pp. 3723-3725.
17. Baumgarten P. — Ueber den Abbau des Pyridins zu Glutaconsäuredialdehyd und dessen Rückverwandlung in Pyridin (I). *Ber.*, 1924, **57 B**, 1622-1627.
18. Baumgarten P. — Die Einwirkung von Halogen auf Enolate des Glutaconsäuredialdehyds und die Synthese von β-Halogen-pyridinen. *Ber.* 1925, **58 B**, 2018-2023.
19. Baumgarten P. — Ueber *N*-Pyridinium-sulfonsäure (II. Mitteilung über den Abbau des Pyridins zu Glutaconsäuredialdehyd). *Ber.*, 1926, **59 B**, 1166-1171.
20. Baumgarten P. — Ueber eine Methode zur Sulfonierung anorganischer und organischer Stoffe. *Ber.*, 1926, **59 B**, 1976-1983.
21. Baumgarten P. — Ueber die Reaktion von Kalium-pyro-sulfat mit Ammoniak und Aminen und von Pyro-schwefelsäure und Monohydrat mit Pyridin. *Ber.*, 1931, **64 B**, 1502-1506.
22. Baumgarten P. — Ueber eine direkte Synthese von 3.5-Dijodpyridin. *Ber.*, 1939, **72 B**, 567-568.
23. Baumgarten P. — Ueber die direkte Synthese von 3.5-Dijodpyridin. *Ber.*, 1939, **72 A**, 859.
24. Baumgarten P. & Marggraff I. — Zur Kenntnis der Carbamido-sulfonsäuren. *Ber.*, 1931, **64 B**, 301-309.
25. Bavin E. M., Drain D. J., Seiler M. & Seymour D. E. — Some further studies on tuberculostatic compounds. *J. Pharm. Pharmacol.*, 1952, **4**, 844-854.
26. Behrmann A. & Hofmann A. W. — Ueber die Amide der Citronensäure ; Umwandlung derselben in Pyridinverbindungen. *Ber.*, 1884, **17**, 2681-2694.
27. Bendich A., Kabat E. A. & Bezer A. E. — Immunochemical Studies on Blood groups. V. Further Characterization of Blood Group A and O Substances from Individual Hog Stomachs. *J. Amer. chem. Soc.*, 1947, **69**, 2163-2167.
28. Berlingozzi S. & Lenoci R. — Sopra alcuni sali dell' acido canfo-10-solfonico (Acido di Reychler). *Boll. chim. farm.*, 1936, **75**, 270-276.
29. Bernstein J., Lott W. A., Steinberg B. A. & Yale H. L. — Chemotherapy of experimental tuberculosis. V. *Iso*nico-

tinic acid hydrazid (Nydrazid) and related compounds *Amer. Rev. Tuberc.*, 1952, **65**, 357-364.

30. Beyerman H. C., Bontekoe J. S., Van Der Burg W. J. & Veer W. L. C. — The synthesis of compounds structurally related to *iso*nicotinic acid hydrazide. *Rec. Trav. chim.*, 1954, **73**, 109-117.
31. Block R. J., Durrum E. L. & Zweig G. — A manual of paper chromatography and paper electrophoresis ; 1 vol., 484 p., Academic Press inc. édit., New-York, 1955; p. 247.
32. Bönicke R. — Die Ursachen des Antagonismus INH-Hämin. *Naturwissenschaften*, 1954, **41**, 377.

    Voir aussi :

    Bönicke R. — Ueber die Bedeutung des Hämins für die Vermehrung der Tuberkelbakterien in synthetischen Nährsubstraten. *Ibid.*, 1954, **41**, 378.
33. Borsche W. — Ueber die Beziehungen zwischen Chinonhydrazonen und p-Oxyazoverbindungen. Erste Abhandlung. Ueber die Constitution der sogenannten Chinonmonosemicarbazone. *Ann.*, 1904, **334**, 143-200.
34. Borsche W. — Ueber die Beziehungen zwischen Chinonhydrazonen und p-Oxyazoverbindungen. Dritte Abhandlung. Ueber Chinonoxim hydrazone. *Ann.*, 1905, **343**, 176-207.
35. Borsche W. — Ueber die Beziehungen zwischen Chinon hydrazonen und p-Oxyazoverbindungen. Vierte Abhandlung. Ueber die Condensation von Nitroderivaten des Phe nylhydrazins mit Chinonen und Chinonoximen der Benzolreihe. *Ann.*, 1907, **357**, 171-191.
36. Borsche W. & Frank R. — Ueber die Beziehungen zwischen Chinonhydrazonen und p-Oxyazoverbindungen. V. Ueber p-Arylsulfon-azo-phenole. *Ann.*, 1926, **450**, 75-84.
37. Borsche W., Müller W. & Bodenstein C. A. — Ueber die Beziehungen zwischen Chinonhydrazonen und p-Oxyazoverbindungen. VI. p-Chinon-dihydrazone aus p-Oxyazoverbindungen. *Ann.*, 1929, **472**, 201-216.
38. Borsche W., Müller W. & Bodenstein C. A. — Ueber die Beziehungen zwischen Chinonhydrazonen und p-Oxyazoverbindungen. VII. Ueber aliphatisch-aromatische Dioxy-4,4' - und Diamino-4-4'-diazoverbindungen. *Ann.*, 1929, **475**, 120-131.
39. Borsche W. & Ockinga K. A. — Ueber die Beziehungen zwischen Chinonhydrazonen und p-Oxyazoverbindungen Zweite Abhandlung. Ueber eine neue Klasse von Oxyazoverbindungen. *Ann.*, 1905, **340**, 85-109.
40. Borsche W. & Rantscheff D. — Ueber 1,3-Dinitro-2-chlorbenzol und seine Unwandlungen. *Ann.*, 1911, **379**, 152-182.

41. Bosworth D. M., Wright H. A. & Fielding J. W. — Marsilid in the treatment of Tuberculosis orthopedic lesions. (A preliminary Report). *Quart. Bull. Sea View Hosp.*, 1952, **13**, 52-73.
42. Böttinger C. — Ueber die Einwirkung von Ammoniak und Amidoderivaten auf Brenztraubensäure. *Ber.*, 1877, **10**, 362-369.
43. Böttinger C. — Ueber die Constitution der Uvitoninsäure. *Ber.*, 1880, **13**, 2032-2035.
44. Böttinger C. — Ueber synthetische Pyridintricarbonsäure *Ber.*, 1880, **13**, 2048-2050.
45. Böttinger C. — Ueber synthetische Picolinmonocarbonsäure und Pyridincarbonsäure. *Ber.*, 1881, **14**, 67-70.
46. Böttinger C. — Ueber einige Pyridinabkömmlinge. *Ber.*, 1884, **17**, 92-95.
47. Böttinger C. — Ueber Pyridincarbonsäure. *Ann.*, 1885, **229**, 248.
48. Bozzola R. — Delle soluzioni iniettabili dei sali di chinina, di calcio e di magnesio, dell'acido canfosolfonico. *Farm. ital.*, 1937, **5**, 279-284.
49. Brodhage H. — Resistance of *M. tuberculosis* to the PAS Salt of INH. *Science*, 1954, **120**, 998-999.
50. Brouet G., Halpern B. N, Marche J. & Mallet J. — Etude expérimentale et clinique d'un nouvel agent chimiothérapique de la tuberculose (isonicotyl-hydrazone de la glycuronolactone). *Presse méd.*, 1953, **61**, 863-865.
51. Brouet G., Halpern B. N., Marche J., Mallet J. & Chrétien J. — Etude expérimentale et clinique de l'isonicotylhydrazone de la glycuronolactone. *Rev. Tuberc.*, 1953, 5e série, **17**, 789-824.
52. Brown C. H., Bond H. E., Peoples S. A. & Sah P. P. T. — Isonicotinylhydrazones from D-mannuronolactone and D-mannuronic acid. *J. Amer. pharm. Ass.*, sc. Ed., 1955, **44**, 591-593.
53. Bulow C. & Weidlich R. — Condensationsproducte von Dihydraziden zweibasischer Säuren. *Ber.*, 1906, **39**, 3372-3377.
54. Burgess H. & Gibson C. S. — Lævo-camphor-10-sulfonic acid from synthetic camphor. *J. Soc. chem. Ind. Trans.*, 1925, **44**, 496 T-498 T.
55. Businelli M. & Rocchi B. — Metodi di dosaggio dell'idrazide dell'acido *iso*nicotinico. *Il Farmaco*, Ed. sc., 1952, **7**, 153.
56. Buu-Hoï N. P., Xuong Ng. D., Nam Ng. H., Binon F. & Royer R. — Tuberculostatic Hydrazides and their derivatives. *J. chem. Soc.*, **1953**, pp. 1358-1364.
57. Cabot Brown, Gomperts J. L., Ina Gourly & Gwyn Roberts E. — Experimental and clinical data with D-glu-

curon isonicotinyl hydrazone in the treatment of tuberculosis. (A preliminary report.) *Stanford med. Bull.*, 1953, **11**, 188-193.

58. Caló A., Mariani A. & Mariani-Marelli O. — Le contrôle des préparations pharmaceutiques à base d'hydrazide de l'acide *iso*nicotinique. *J. Pharm. Belg.*, 1952, **7**, 377-385.

59. Camps R. — Ueber einige Harnstoffe, Thioharnstoffe und Urethane des Pyridins. *Arch. Pharm.* (*Weinheim*), 1902, **240**, 345-365.

60. Canbäck T. — A note on the estimation of isonicotinic acid hydrazide. *J. Pharm. Pharmacol.*, 1952, **4**, 407.

61. Capel F. — Premières observations sur le sel de sodium de l'acide benzal*iso*nicotinylhydrazone - métasulfonique (G. 605) dans le traitement de la tuberculose. Thèse Doct. Méd., Paris, 1953 ; 34 p. dact., 5 tabl. h. t., 3 pl. h. t.

62. Carrara G., Chiancone F. M., d'Amato V., Ginoulhiac E., Martinuzzi C., Teotino U. M. & Viscontini N. — Primo contributo alla conoscenza dell' attivitá antitubercolare delle idrazide. *Gazz. chim. ital.*, 1952, **82**, 652-670.

63. Carrara G., d'Amato V., Rolland G. & Fursapoli E. — Sintesi di analoghi dell'idrazide dell'acido *iso*nicotinico e loro proprietá antitubercolari-II. *Gazz. chim. ital.*, 1953, **83**, 459-475.

64. Castel P., Orzalesi H. & Dubois A. — Caractérisation et dosage de l'hydrazide de l'acide isonicotinique. *Trav. Soc. Pharm. Montpellier*, 1952, **12**, 73-74.

65. Caujolle M. F. & Meynier D. — Toxicité de la vanilline, de l'ortho-vanilline, de l'éthylvanilline et des méta-dialdéhydes correspondants. *Ann. pharm. franç.*, 1954, **12**, 42-49.

66. Cavallini G., Mantegazza P., Massarani E., Mazzuchi F., Ravenna F. & Tommasini R. — Attivitá antitubercolare *in vitro* di alcune idrazidi ed *iso*nicotinil-idrazoni. *Atti Soc. lombarda Sci. med. biol.*, 1952, **7**, fasc. spéc., 161-164.

67. Cavallini G., Massarani E., Mazzuchi F. & Ravenna F. — Sopra alcune idrazid ed *iso*nicotinilidrazoni. *Il Farmaco*, Ed. sc., 1952, **7**, 138-145.

68. Ceriotti G. — Contributo allo studio dell'idrazide dell'acido *iso*nicotinico (Nota I). Tossicitá ed attivitá antibatterica. *Il Farmaco*, Ed. sc., 1952, **7**, 146.

69. Ceriotti G. — Ricerche microbiologiche e biologiche sulla associazione fra streptomicina e metansulfonato dell' idrazide isonicotinica. *Il Farmaco*, Ed. sc., 1953, **8**, 465-469.

70. Ceriotti G. — Modificazione della resistanza alla diidrostreptomicina sotto l'azione dell'INHM (metansulfonato dell'idrazide isonicotinica) e formazione di un ceppo dipendente dell'INHM. *Batt. Immun.*, 1954, **46**, 361-366.

71. Ceriotti G., Defranceschi A., de Carneri I. & Zamboni V. — A comparative study on the metabolism of *iso*nicotinic acid hydrazid and of *iso*nicotinoyl-hydrazinomethanesulphonic acid in the rat. *Brit. J. Pharmacol.*, 1953, **8**, 356-365.

72. Ceriotti G. & Franceschini J. — Dati biologici e microbiologici su un nuovo derivato della idrazide dell'acido *iso*nicotinico a bassa tossicitá e ad alta attivitá. *Arch. int. Pharmacodyn.*, 1953, **93**, 105-117.

73. Charonnat R. & Boime A. — Sur le chlorhydrate, le bromhydrate et les iodométhylates isomères de la *para*diméthylaminobenzaldéhyde *iso*nicotylhydrazone. *C. R. Acad. Sci.* (*Paris*), 1953, **236**, 2251-2252.

74. Charonnat R. & Boime A. — Propriétés et constitution du paraminosalicylate d'isonicotylhydrazide. *C. R. Acad. Sci.* (*Paris*), 1953, **236**, 2410-2411.

75. Charonnat R., Lechat P., Chareton J. & Fabiani P. — Recherches sur la nature des chocs provoqués par les injections intraveineuses. Un type de choc à manifestations tardives : le choc carbonyloprive déclenché par l'isonicotylhydrazide et d'autres hydrazides. *Ann. pharm. franç.*, 1953, **11**, 729-734.

76. Chiti E. & Inzerillo R. — Comportamento della tuberculosi sperimentale della cavia in seguito a trattamento con l'idrazide dell'acido paraaminosalicilico. *Arch. « Maragliano » Pat. Clin.*, 1953, **8**, 1417-1436.

77. Chorine V. — Action de l'amide nicotinique sur les bacilles du genre *Mycobacterium*. *C. R. Acad. Sci.* (*Paris*), 1945, **220**, 150-151.

78. Ciusa R. & Ciusa W. — Influenza dei solventi sul colore del p-nitrofenilidrazone della p-dimethylaminobenzaldeide. *Gazz. chim. ital.*, 1951, **81**, 262-265.

79. Ciusa R. & Padoa M. — Casi limite fra polimorfismo ed isomeria. *Rend. Acad. Lincei*, 1909, **18**, 621-626.

80. Ciusa R. & Vecchiotti L. — Nitro derivati et nitroidrazoni. *Rend. Acad. Lincei*, 1920, **29**, 42-47.

81. Clegg J. W. — Clinical trial of P. A. S. salt of isoniazid in treatment of pulmonary tuberculosis. *Brit. med. J.*, **1955**, pp. 1004-1005.

82. Clemo G. R. & Metcalfe T. P. — Bicyclo [1 :2 :2] Aza-1-heptane. *J. chem. Soc.*, **1937**, pp. 1523-1526.

83. Colonna M. & Runti C. — N-ossido dell'idrazide isonicotinico. *Ann. Chim. appl.* (*Rome*), 1953, **43**, 87-89.

84. Cook D. J. & Yunghans S. — The preparation of isonicotinic and picolinic acids. *J. Amer. chem. Soc.*, 1952, **74**, 5515-5516.

85. Coppini D., Cameroni R. & Monzani A. — Su due novi metodi di determinazione dell' idrazide dell' acido isonicotinico. *Ric. scient.*, 1952, **22**, 1783-1784.

86. Crough W. W. & Lochte H. L. — Reaction of glutarimides with Phosphorus Pentachloride. A New Pyridine Synthesis. *J. Amer. chem. soc.*, 1943, **65**, 270-272.

87. Curtius Th. — Hydrazide und Azide organischer Säuren. I. Abhandlung. *J. prakt. Chem.*, 1894 [2], **50**, 275-294.

88. Curtius Th. & Boeltzen E. — Das Hydrazid und Azid der Phenylessigsäure. *J. prakt. Chem.*, 1901 [2], **64**, 314-323.

89. Curtius Th. & Franzen H. — Darstellung von Säurehydraziden aus Diammoniumsalzen. *Ber.*, 1902, **35**, 3239-3241.

90. Curtius Th. & Hille H. — Das Hydrazid und Azid der Propionsäure und der Isovaleriansäure. *J. prakt. Chem.*, 1901 [2], **64**, 401-418.

91. Curtius Th., Schöfer G. & Schwan N. — Ueber einige Hydrazide einbasischer und zweibasischer Säuren der Fettreihe. *J. prakt. Chem.*, 1895, [2], **51**, 180-196.

92. Curtius Th. & Struve G. — Hydrazide und Azide organischer Säuren ueber Benzhydrazid. *J. prakt. Chem.*, 1894, **50**, 295-310.

93. Curtius Th. & Trachmann O. — Hydrazide und Azide organischer Säuren ; die drei Mono - Nitrobenzhydrazide. *J. prakt. Chem.*, 1895, **51**, 165-179.

94. Cuthbertson W. F. J. & Ireland D. M. — The detection and identification of isonicotinic acid hydrazide and other tertiary pyridine derivatives. *Biochem. J.*, 1952, **52**, XXXIV.

95. Cuthbertson W. F. J., Ireland D. M. & Wolff W. — Detection and identification of some metabolites of isonicotinic acid hydrazide (isoniazid) in human urine. *Biochem J.*, 1953, **55**, 669-671.

96. Cymerman-Craig J. & Rubbo S. D. — Antituberculous activity of verazide (I-*iso*nicotinoyl-2-veratrylidene hydrazine). *Nature*, 1955, **176**, 887.

97. Cymerman-Craig J., Willis D., Rubbo S. D. & Edgar J. — Mode of action of *iso*Nicotinic Hydrazide. *Nature*, 1955, **176**, 34-35.

98. Darapsky A. — Ueber eine neue Bildungsweise der Stickstoffwasserstoffsäure und des Diazobenzolimids. *Ber.*, 1907, **40**, 3033-3039.

99. Darapsky A. — Ueber die Hofmannsche Reaktion von Amid- und Hydrazinderivaten der Kohlensäure. *J. prakt. Chem.*, 1907, **76**, 433-466.

100. Defranceschi A. & Zamboni V. — Sul dosaggio dell' idrazide dell' acido *iso*nicotinico ; Dosaggio chimico dell' idrazide e dei suoi derivati. *Giorn. Biochim.*, **1952**, pp. 405-416.

101. Defranceschi A. & Zamboni V. — Identification of two metabolities of isoniazid *iso*nicotinoylglycine and 1-*iso*-nicotinoyl 2-acetylhydrazine by paper chromatography in rat urine. *Biochim. biophys. Acta,* 1954, **13**, 304-305.

102. Deltombe J. — Etude analytique du groupe de l'acide nicotinique. *J. Pharm. Belg.,* 1953, **35**, 59-75.

103. Demoen P., Janssen P., Van de Keere B. & Zivkovic D. — On the metabolic fate of isoniazide (I N H) and its N^2-D-glucuronolactone derivate (I N G H) in man. *Arch. int. Pharmacodyn.,* 1954, **98**, 426-436.

104. Den Hertog H. J. & Farenhorst E. — Note on the synthesis of pyridine derivatives from glutarimide by W. W Crouch and H. L. Lochte. *Rec. Trav. Chim.,* 1948, **67**, 380.

105. Denigès G. — Détermination du sélénium combiné à l'état d'ion sélénieux. Application aux eaux naturelles. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux,* 1937, **75**, 197-205.

106. Dimroth O. & Frister F. — Reduktion von Pyridin mit Zinkstaub und Essigsäure-anhydrid (2-Mitteilung). *Ber.,* 1922, **55 B**, 1223-1232.

107. Dimroth O. & Heene R. — Reduktion von Pyridin mit Zinkstaub und Essigsäure-anhydrid. *Ber.,* 1921, **54 B**, 2934-2942.

108. Domagk G., Behnisch R., Mietzsch F. & Schmidt H. — Ueber eine neue gegen Tuberkelbazillen *in vitro* wirksame Verbindungsklasse. *Naturwissenschaften,* 1946, **10**, 315.

109. Domleo A. P. — The Determination of Isoniazid. *J. Pharm. Pharmacol.,* 1953, **5**, 117-118.

110. Drucker C. Von. — Optische und thermodynamische Aktivität der Camphersulfosäure in Lösungen von Neutralsalzen. *Z. physik. Chem.,* 1933, **165 a**, 411-419.

111. Druey J. & Ringier B. H. — Hydrazinderivate der Phtalazin- und Pyridazinreihe. *Helv. chim. Acta,* 1951, **34**, 195-210.

112. Dubreuil L. — Action de la pyridine, de la quinoléine et de la quinaldine sur l'acide bromosuccinique. *Bull. Soc. Chim. Paris,* 1904, 3e série, **31**, 908-913.

113. Duroux A., Masson P., Marty J., Jarniou A, Azorin D., Mistrot & Robert. — Etude et clinique d'un dérivé de l'isoniazide : le G. 605. *Rev. Tuberc.,* 1953, 5e série, **17**, 1092-1094.

114. Duval C., Buu-Hoï N. P., Xuong Ng. D. & Jacquinot M. — Etude biochimique et microanalytique de quelques hydrazides tuberculostatiques. *Mickrochim. Acta,* 1953, **3**, 212-219.

115. Eckert A. & Loria S. — Ueber zwei neue Basen aus dem Steinkohlenteer. *Monatsh. Chem.,* 1917, **38**, 225-247.

116. Efimovski O. & Rumpf P. — Recherches sur l'acide méthyl-

2-pyridine carboxylique-4. *Bull. Soc. chim. Fr.*, **1954**, pp. 648-649.

117. Efimovski O. & Rumpf P. — Quelques isonicotinoylhydrazones. *Bull. Soc. chim. Fr.*, **1954**, pp. 1401-1404.

118. Emmert B. — Ueber Verbindungen des Pyridins mit den Alkalimetallen. III. Mitteilung. *Ber.*, 1917, **50**, 31-35.

119. Engelund A., Terp P. & Trolle-Lassen C. — Properties of isonicotinylhydrazide. *Arch. Pharm. chem.*, 1952, **59**, 560 ; *J. Pharm. Pharmacol.*, 1953, **5**, 121.

120. Feigl F. — Spot tests, 2 vol., 518 et 436 p., Elsevier édit., Amsterdam, 1954, vol. II, p. 356.

121. Feigl F. & Mannheimer W. A. — Notiz zum Nachweis von Hydrazin in der Tüpfelanalyse. II. *Mikrochem. mikrochim. Acta*, 1953, **40**, 355-358.

122. Fernandez O. & Castillo M. — Nuevas aportaciones al empleo de la 2 :4 dinitroténilhidrazine. *Anales R. Soc. espan. Fis. Quim.*, 1935 (1), **33**, 81-89.

123. Fischer M. W. — The antagonism of the tuberculostatic action of isoniazid by hemin. *Amer. Rev. Tuberc.*, 1954, **69**, 469-470.

124. Fischer O. & Tauber E. — Zur Kenntniss des Flavanilins. *Ber.*, 1884, **17**, 2925-2928.

125. Floch H. — Intérêt du benzal-isonicotyl-hydrazone-métasulfonique en thérapeutique antilépreuse. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1954, **47**, 21-25.

126. Fox H. H. — Abstracts 12 th intern. Cong. pure and applied Chem., 1951, p. 299.

127. Fox H. H. — Synthetic tuberculostats. III. Isonicotinaldehyde thiosemicarbazone and some related compounds. *J. org. Chem.*, 1952, **17**, 555-562.

128. Fox H. H. — Synthetic tuberculostats. VI. Some sugar derivatives of isonicotinylhydrazine. *J. org. Chem.*, 1953, **18**, 290-293.

129. Fox H. H. & Gibas J. T. — Synthetic tuberculostats. IV. Pyridine carboxylic acid hydrazides and benzoic acid hydrazides. *J. org. Chem.*, 1952, **17**, 555-562.

130. Fox H. H. & Gibas J. T. — Synthetic tuberculostats. V. Alkylidene derivatives of Isonicotinylhydrazine. *J. org. Chem.*, 1953, **18**, 983-989.

131. Fox H. H. & Gibas J. T. — Synthetic tuberculostats. VII. Monoalkyl derivatives of isonicotinylhydrazine. *J. org. Chem.*, 1953, **18**, 994-1002.

132. Fox H. H. & Gibas J. T. — Synthetic tuberculostats. VIII. Acyl derivatives of isonicotinyl hydrazine. *J. org. Chem.*, 1953, **18**, 1375-1379.

133. Fox H. H. & Gibas J. T. — Synthetic tuberculostats. IX. Dialkyl derivatives of isonicotinylhydrazine. *J. org. Chem.*, 1955, **20**, 60-69.

134. Fox H. H. & Gibas J. T. — Synthetic tuberculostats. XI. Trialkyl and other derivatives of isonicotinylhydrazine. *J. org. Chem.*, 1956, **21**, 356-361.

135. Fox H. H., Gibas J. T. & Motchane A. — Synthetic tuberculostats. X. The structure of the disubstituted isonicotinylhydrazines. *J. org. Chem.*, 1956, **21**, 349-355.

136. Franchi G. — Sopra una nuova determinazione volumetrica dell' idrazide dell' acido isonicotinico. *Il Farmaco*, Ed sc., 1952, **7**, 640-644.

137. Frank R. L. & Smith P. V. — 4-Ethylpyridine ; *in* Shriner R. L., Organic Synthesis, vol. 27, pp. 38-40 ; 1 vol., 121 p., J. Wiley & Sons, Inc. edit., New York, 1947.

138. Fürth H. — Ueber die Berberonsäure und deren Zersetzungsproducte. *Monatsh. Chem.*, 1881, **2**, 416-431.

139. Fusco D. — Su alcuni sali alcaloidei dell' acido canfosulfonico. *Boll. chim. farm.*, 1935, **74**, 585-587.

140. Gabriel S. — Synthese des Isochinolins. *Ber.*, 1886, **19**, 1653-1656.

141. Gabriel S. & Müller F. — Ueber Phtalazin. *Ber.*, 1895, **28**, 1830-1835.

142. Gabriel S. & Pinkus G. — Ueber das Phtalazin. *Ber.*, 1893, **26**, 2210-2216.

143. Garattini S. — Su alcune possibilitá di riconoscimento differenziale tra idrazide *iso*nicotinica (INI), acido *iso*nicotinico, *iso*nicotinamide. *Atti Soc. lombarda Sci. med. biol.*, 1951-1952, **7**, 107-109.

144. Garattini S., Grassi C., Mantegazza P., Morvillo V., Tommasini R. & Trabucchi E. — Studi farmacologici sulla idrazide dell'acido *iso*nicotinico. *Atti Soc. lombarda Sci. med. biol.*, 1952, **7**, fasc. spec., 1-19.

145. Gardner T. S., Wenis E. & Lee J. — The synthesis of compounds for the chemotherapy of tuberculosis. IV. The amide function. *J. org. Chem.*, 1954, **19**, 753-757.

146. Gautier J. A. — Sur les hydrazides de l'acide nicotique : le bis-nicotamide (dihydrazide nicotique symétrique). *C. R. Acad. Sci. (Paris)*, 1946, **222**, 394-396.

147. Gautier J. A. & Pellerin F. — L'hydrazide nicotinique réactif de la fonction carbonylée. *Chimie analytique*, **1950**, suppl., pp. 384-386.

148. Gerichten E. von. — Ueber das Betaïn des Pyridins. *Ber.*, 1882, **15**, 1251-1254.

149. Gerichten E. von. — Notiz über das Pyridin-α-dinitrophenylchlorid. *Ber.*, 1899, **32**, 2571-2572.

150. Giacalone A. — Riduzion edei chinoni per mezzo della fenilidrazina. *Gazz. chim. ital.*, 1928, **58**, 409-411.

151. Ginouilhiac E. — Come si puó dosare l'idrazide dell'acido isonicotinico (I.A.I.), nei liquidi biologici. *Rass. med. (Milano)*, 1952, **29**, 86-89.

152. Ginouilhiac E. & Tenconi L. T. — Determinazione dell'idrazide *iso*nicotinica e dell'acido nicotinico nei liquidi biologici con la reazione di Koenig. *G. Mal. infett. parassit.*, 1952, **4**, 63-67.

153. Giovambattista N. & Salud Sangra C. — Sobre algunas isonicotinoil-hidrazonas. *Rev. Asoc. bioquim. argent.*, 1953, **18**, 222-225.

154. Girard A. & Sandulesco G. — Sur une nouvelle série de réactifs du groupe carbonyle, leur utilisation à l'extraction des substances cétoniques et à la caractérisation des aldéhydes et cétones. *Helv. chim. Acta*, 1936, **19**, 1095-1107.

155. Girault M. F. — Sur l'acide camphosulfonique et quelques camphosulfonates. *J. Pharm. Chim.* (*Paris*), 1934, 8e série, **20**, 207-217.

156. Gisbert Calabuig J. A. & Fernandez Fresneda M. — ¿ Puede la hidracide del ácido isonicotinico constituir una causa de error en la investigacion toxicológica de alcaloides ? *Galenica Acta* (*Madr.*), 1953, **6**, 221-237.

157. Goldman D. S. — A spectrophotometric determination of *iso*nicotinic acid hydrazide, *Science*, 1954, **120**, 315-316.

158. Goldschmiedt G. — Untersuchungen über Papaverin. *Monatsh. Chem.*, 1885, **6**, 372-403.

159. Gompert J. L. & Cabot Brown. — Results of treatment of pulmonary tuberculosis with D. glucuronolactone isonicotinyl hydrazone. *Transactions of the 13th conference on the chemotherapy of tuberculosis*, 1954, pp. 366-373.

160. Graebe C. & Trumpy F. — Ueber Phtalonsäure (Phenäthylonsäure-methylsäure-1,2). *Ber.*, 1898, **31**, 369-375.

161. Graebe C. & Trumpy F. — Ueber Homophtalsäure (Phenäthylsäure-méthylsäure-1,2). *Ber.*, 1898, **31**, 375-377.

162. Graf R. — Ueber die symmetrischen sekundären Hydrazide einiger Pyridin- und Chinolinmonocarbonsäuren *J. prakt. Chem.*, 1933, **138**, 289-291.

163. Graham J. I. — The Optical Activity of Salts and Derivatives of *d*-Camphor-β-sulphonic Acid. *J. chem. Soc.*, 1912, **101**, 746-758.

164. Gross F., Druey J. & Meier R. — Eine neue Gruppe blutdrucksenkender Substanzen von besonderem Wirkungscharakter. *Experientia*, 1950, **6**, 19-21.

165. Grumbach Mme F., Rist N., Libermann D., Moyeux M., Cals Mme S. & Clavel Mlle S. — Activité antituberculeuse expérimentale de certains thioamides isonicotiniques substitués sur le noyau. *C. R. Acad. Sci.* (*Paris*), 1956, **242**, 2187-2189.

166. Grunberg E. & Schnitzer R. C. — Studies on the activity of hydrazine derivatives of *iso*nicotinic acid in the experimental tuberculosis of mice. *Quart. Bull. Sea View Hosp.*, 1952, **13**, 3-11.

167. Guilleman P. — Valeur thérapeutique des principaux dérivés de l'isoniazide. *Rev. du praticien,* 1955, **5**, 3157-3165.

168. Guillermin M. & Barbier L. — Les traitements des adénites cervicales bacillaires par un nouvel antibiotique (Sulfoniazide sel de sodium). *Journal français d'O. R. L. et Chirurgie maxillo-faciale,* 1955, **4**, 309-311.

169. Gunella G. — Prime impressioni sull'uso del metansulfonato sodico della isonicotinidrazide (T. 170) nella Tbc polmonare. *G. Clin. med.,* 1953, **34**, 97-120.

170. Gutbier A. — Ueber die Einwirkung von Phenylhydrazin auf die Sauerstoffverbindungen des Selens und des Tellurs. *Z. anorg. Chem.,* 1902, **32**, 257-259.

171. Hackmann J. Th., Wibaut J. P. & Gitsels H. P. L. — On the basic nitrogen-compounds from cracked distillates of California petroleum. *Rec. Trav. chim.,* 1943, **62**, 229-253.

172. Halpern B. N. — Toxicité et propriétés physiologiques d'un nouvel agent chimiothérapique de la tuberculose, l'isonicotylhydrazone de la glucurolactone (I.N.H.G.). *C. R. Soc. Biol. (Paris),* 1953, **147**, 397-400.

173. Hantzsch A. — Ueber die Synthese pyridinartiger Verbindungen aus Acetessigäther und Aldehydammoniak. *Ann.,* 1882, **215**, 1-82.

174. Hart J. J. D., Piepes S. L., Anderson F. E., Barkley F. A. & Mast G. W. — p-Aminosalicylic acid hydrazide *in vitro* activity against *Mycobacterium tuberculosis. Antibiot. and Chemother.,* 1954, **4**, 809-812.

175. Hart J. J. D., Rutherford G., Anderson F. E., Barkley F. A. & Mast G. W. — *In vitro* activity of N-isonicotinoyl-N'-(salicylidene) hydrazine (Salizid) against *Mycobacterium tuberculosis. Antibiot. and Chemother.,* 1954, **4**, 803-808.

176. Hart J. J. D., Rutherford G., Anderson F. E., Barkley F. A. & Mast G. W. — *In vitro* activity of isonicotinoyl-N'-(2,2-dimethyl-3-hydroxypropylidine) hydrazine (Pivalizid) against *Mycobacterium tuberculosis. Antibiot. and Chemotherap.,* 1954, **4**, 813-817.

177. Harting H. — A note on the determination of isonicotinic acid hydrazide by a volumetric method. *J. Amer. pharm. Assoc.,* 1953, **42**, 323-324.

178. Haugas E. A. & Mitchell B. W. — The estimation of *iso*nicotinyl hydrazide. *J. Pharm. Pharmacol.,* 1952, **4**, 687-692.

179. Heckenroth M. & Gineste H. de. — Le paramino salicylate d'isonicotyl hydrazide dans le traitement de la tuberculose pulmonaire. *Médecine d'Afrique noire,* 1955, **2**, fasc. 34, 1-15.

180. Heusler F. & Schieffer H. — Ueber die Darstellung von Homophtalsäure und von β-Hydrindon aus dem Inden des Steinkohlentheers. *Ber.,* 1899, **32**, 28-34.

181. Hinsberg O. — Einige Beobachtungen über Selen. *Ann.*, 1890, **260**, 40-52.

182. Hobby G. L., Lenert T. L., Rivoire Z. C., Donikian M & Pikula D. — *In vitro* and *in vivo* activity of streptomycin and isoniazid singly and in combination. *Ann. Rev. Tuberc.*, 1953, **67**, 808-827.

183. Hodgman C. D., Weast R. C., Wallace C. W. & Selby S. M. — Handbook of Chemistry and Physics ; 1 vol., 3.173 p., 36e édit., Chemical Rubber Publishing C° édit., Cleveland (Ohio), 1954 ; p. 1637.

184. Hoogewerff S. & Van Dorp W. A. — Ueber Carbonsäuren des Pyridins. *Ber.*, 1880, **13**, 61-65.

Hoogewerff S. & Van Dorp W. A. — Ueber das Verhalten der Chinaalkaloïde gegen übermangansäures Kalium. *Ann.*, 1880, **204**, 84-118.

185. Hoogewerff S. & Van Dorp W. A. — Zur Kenntniss des Lepidins. *Ber.*, 1880, **13**, 1639-1640.

186. Hoogewerff S. & Van Dorp W. A. — Sur la Lépidine. *Rec. Trav. chim.*, 1883, **2**, 14-28.

187. Hoogewerff S. & Van Dorp W. A. — Sur les produits de l'oxydation de l'isoquinoléine par le permanganate de potassium. *Rec. Trav. chim.*, 1885, **4**, 285-293.

188. Huebner C. F. — Paper chromatography of pyridine derivatives. *Nature*, 1951, **167**, 119-120.

189. Hughes H. B. — On the metabolic fate of isoniazid. *J. Pharmacol.*, 1953, **119**, 444-452.

190. Inzerillo R. — Lo spettro antibatterico « in vitro » dell'acido paraaminosalicilico. *Arch. « Maragliano » Pat. Clin.*, 1953, **8**, 1481-1486.

191. Inzerillo R. & Chiti E. — Azione « in vitro » di un nuovo chemioterapico antitubercolare. L'idrazide dell'acido paraaminosalicilico. *Arch. « Maragliano » Pat. Clin.*, 1953, **8**, 391-394.

192. Inzerillo R. & Chiti E. — L'idrazide dell'acido paraaminosalicilico nel trattamento della tubercolosi polmonare e nelle pleuriti. *Arch. « Maragliano » Pat. Clin.*, 1954, **9**, 335-353.

193. Isler O., Gutmann H. & Straub O. — Ueber substituierte isonicotinylhydrazide. *Chimica (Suisse)*, 1953, **7**, 235.

194. Isler O., Gutmann H., Straub O., Böhni E. & Studer A. — Chemotherapie der experimentellen Tuberkulose. (II). Kernsubstituierte Isonicotinsäurehydrazide. *Helv. chim. Acta*, 1955, **38**, 1033-1046.

195. Jacobs M. B. — Microdetermination of isoniazids. *J. Amer. pharm. Assoc.*, 1953, **42**, 346-348.

196. Jacobs M. B. — Micro determination of isoniazids in blood. *Science*, 1953, **118**, 142-143.

197. Janssen P. & Demoen P. — Etude analytique de l'I.N.H.G. *J. Pharm. Belg.*, 1954, **9**, 20-29.

198. Jensen L. H. — Crystal structure of *iso*nicotinic acid hydrazide. *Nature*, 1953, **171**, 217.

199. Jensen L. H. — The crystal structure of *iso*nicotinic acid hydrazide. *J. Amer. chem. Soc.*, 1954, **76**, 4663-4667.

200. Jones H. O.. — A study of the Isomerism and Optical Activity of Quinquevalent Nitrogen Compounds. *J. chem. Soc.*, 1903, **83**, 1410-1421.

201. Kaas K. — Ueber Cinchomeron- und Apophyllensäure. *Monatsh. Chem.*, 1902, **23**, 250-261.

202. Kahane E. & Sackur O. — Sur l'analyse des hydrazines pyridine-carboniques. *Ann. pharm. franç.*, 1953, **11**, 175-182.

203. Kerp W. & Unger K. — Ueber das Semioxamazid. *Ber.*, 1897, **30**, 585-593.

204. Kettlitz V. — Un nuovo antitubercolare di sintesi : l'isonicotinilidrazide. *Boll. Chim. Farm.*, 1952, **91**, 100-105.

205. Kirpal A. — Ueber die Umlagerung von Cinchomeronmethylestersäure in Apophyllensäure und die Structur beider. *Monatsh. Chem.*, 1902, **23**, 239-249.

Voir aussi :

Kirpal A. — Ueber Cinchomeronsäureester und Apophyllensäure. *Ibid.*, 1902, **23**, 765-772.

206. Kirpal A. — Ueber Betaïnbildung und sterische Hinderung. *Monatsh. Chem.*, 1910, **31**, 969-979.

207. Klosa J. — Ueber neue Tuberkulostatika der Hydrazinreihe. *Apotheker Ztg*, 1952, **4**, 120-123.

208. Knoevenagel E. & Fries A. — Synthesen in der Pyridinreihe. Ueber eine Erweiterung der Hantzsch'schen Dihydropyridinsynthese. *Ber.*, 1898, **31**, 761-767.

209. König W. — Ueber eine neue, vom Pyridin derivierende Klasse von Farbstoffen. *J. prakt. Chem.*, 1904, **69**, 105-137 ;

Voir aussi :

König W. & Becker G. A. — Ueber den Zusammenhang zwischen Farbe und Konstitution der Pyridinfarbstoffe aus sekundären aromatischen. *J. prakt. Chem.*, 1912, **85**, 353-371.

210. Kourilsky R., Kourilsky S. & Micoulaud S. — Etude expérimentale et clinique d'un produit nouveau résultant de la combinaison de l'isoniazide avec l'acide paraminosalicylique. *Thérapie*, 1954, **9**, 273-292.

211. Krüger-Thiemer E. — Chemismus der Isoniazidspaltung durch Hämin. *Naturwissenschaften*, 1955, **42**, 47-48.

212. Ladenburg A. — Ueber die Synthese des γ-Aethylpyridins und die Beziehungen des Pyridins zum Benzol. *Ber.*, 1883, **16**, 2059-2063.

213. Ladenburg A. — Ueber Aethylpyridine und Aethylpiperidine. *Ber.*, 1885, **18**, 2961-2967.
214. Ladenburg A. — Ueber Pyridin- und Piperidinbasen. *Ann.*, 1888, **247**, 1-98.
215. Ladenburg A. — Ueber die Piperidincarbonsäuren. *Ber.*, 1892, **25**, 2768-2775.
216. Ladenburg A. — Ueber die Einwirkung von Aethylenjodür auf Pyridin. *Ber.*, 1899, **32**, 42-46.
217. Laubie H. — Quelques réactions de la vitamine B_6. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 1949, **87**, 119-120.
218. Laubie H. — Réaction d'identité et dosage de l'hydrazide *iso*nicotinique. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 1952, **90**, 106-108.
219. Le Blanc M. — Ein Beitrag zur Kenntniss des Isochinolins und seiner Derivate. *Ber.*, 1888, **21**, 2299-2301.
220. Lenoci R. — Nuovi sali dell'acido canfo-10-solfonico. *Boll. chim. farm.*, 1938, **77**, 41-45.
221. Leopold A. C. & Klein W. H. — Maleic Hydrazide as an Antiauxin in Plants. *Science*, 1951, **114**, 9-10.
222. Lespagnol A., Schmitt J. & Beerens H. — Etude des dérivés de l'isoniazide. *Bull. Soc. Pharm. Lille*, **1955**, num. spéc., pp. 30-33.
223. Leuschner F. — Ueber der Nachweis einiger Isonicotinsäure und Nicotinsäure Abkömmlinge auf Filtrierpapier. *Naturwissenschaften*, 1953, **21**, 554.
224. Leuschner F. — Eine chromatographische Methode zur Bestimmung des Isonicotinsäurehydrazid. *Arch. exp. Path. Pharmak.*, 1954, **221**, 323-327.
225. Levaditi C., Girard A., Vaisman A. & Ray A. — Etude expérimentale de l'activité antituberculeuse de la β-pyridine aldéhyde thiosemicarbazone. *C. R. Acad. Sci.* (*Paris*), 1950, **231**, 1174-1176.
226. Libermann D. — Etudes dans le domaine de la chimiothérapie antituberculeuse. 2e mémoire — Dérivés des hydrazides — Hydrazino-éthers monosubstitués et diacylhydrazines. *Bull. Soc. Chim. Fr.*, **1954**, pp. 195-199.
227. Libermann D., Grumbach F. & Rist N. — Sur les hydrazino-éthers monosubstitués et sur l'examen du pouvoir tuberculostatique des hydrazino-éthers isonicotiniques correspondants. *C. R. Acad. Sci.* (*Paris*), 1953, **237**, 338-339.
228. Libermann D., Rist N. & Grumbach F. — Sur l'activité tuberculostatique *in vitro* de quelques γ-dérivés fonctionnels de la pyridine. 3e Congrès Int. Biochimie, Bruxelles 1955, *in* résumé des comm., p. 136.
229. Libermann D., Rist N. & Grumbach F. — Etudes dans le domaine de la chimiothérapie antituberculeuse. 4e Mémoire. I. Sur l'activité tuberculostatique *in vitro* de

quelques γ-dérivés fonctionnels de la pyridine. *Bull. Soc. Chim. biol.* (*Paris*), 1956, **38**, 231-242.

230. Libermann D., Rist N., Grumbach F., Moyeux M., Gauthier B., Rouaix A., Maillard J., Himbert J. & Cals S. — Etude dans le domaine de la chimiothérapie antituberculeuse. 3e mémoire : Hydrazides et hydrazidones. *Bull. Soc. chim. Fr.*, **1954**, pp. 1430-1443.

231. Lipp P. & Holl M. — Studie zum Additionsproblem an einem Fall aus der Camphen-Reihe. *Ber.*, 1929, **62 B**, 499-504.

232. Lock G. — Ueber die Herstellung von Isonikotinsäurehydrazid. *Pharm. Ind.*, 1952, **14**, 366-368.

233. Logemann W. — Su alcuni sali di acidi alchilsolfonici dell' idrazide *iso*nicotinica. *Il Farmaco*, Ed. sc., 1952, **7**, 430-434.

234. Logemann W., Defranceschi A. & Zamboni V. — Su alcuni derivati dell'idrazide dell' acido *iso*nicotinico. Nota II. *Il Farmaco*, Ed. sc., 1954, **9**, 521-528.

235. Lorenzi F. de & Aldrovandi R. — Titolazione di varie sostanze farmaceutiche in acido acetico glaciale. *Il Farmaco*, Ed. sc., 1956, **11**, 267-273.

236. Lutz O. — Ueber eine eigenartige Reaktion der Maleinsäure. *Ber.*, 1910, **43**, 2636-2641.

237. Lutz O., Klein R. & Jirgenson A. — Ueber Isomerisationsprodukte der Pyridin-Salze ungesättigter Säuren. *Ann.*, 1933, **505**, 307-310.

238. Lutz A., Velu M. & Velu P. — Aspects histopathologiques de la tuberculose expérimentale du cobaye et traitement par l'isonicotinylhydrazone de la métasulfobenzaldéhyde. *Rev. Immunol.*, 1956, **20**, 37-54.

239. Lutz A. & Witz M. A. — L'action *in vitro* de l'isonicothydrazone de la métasulfobenzaldéhyde (605 G) sur quelques souches de bacilles tuberculeux. *Ann. Inst. Pasteur*, 1955, **89**, 236-241.

240. Lutz A. & Witz M. A. — L'action de l'isonicothydrazone de la métasulfobenzaldéhyde (605 G) sur la tuberculose expérimentale du cobaye. I. Après inoculation de bacilles tuberculeux sensibles à la streptomycine et à l'isoniazide et traitement *per os*. *Ann. Inst. Pasteur*, 1955, **89**, 327-335.

241. Magrane D. — Hydrazide of 4-pyridinecarboxylic acid. Brev. esp. n° 202. 450 ; 28 mai 1952 ; in *Chem. Abstr.*, 1955, **49**, 1821 a.

242. Magrane D. — 4-Pyridinecarboxylic acid. Brev. esp. n° 202.451 ; 20 mai 1952 ; in *Chem. Abstr.*, 1955, **49**, 1821 b.

243. Makino K., Kinoshita T. & Itoh T. — Biological acetylation of isonicotinyl hydrazide. *Nature*, 1954, **173**, 36.

244. Mantegazza P. & Tommasini R. — Attività antitubercolare di composti aventi qualche analogia strutturale con la *iso*-nicotinilidrazide. *Atti. Soc. lombarda Sci. med. biol.*, 1951-1952, **7**, 496-503.

245. Marayuma S. & Imamura H. — Antituberculostatics. IV. Syntheses of some derivative of 4-pyridinecarboxylic acid hydrazide. *Ann. Repts Takeda Research Lab.*, 1953, **12**, 62-66 ; in *Chem. Abstr.*, 1954, **48**, 4695 e.

246. Marques-Leal A. & Alves M. A. — Dois novos métodos de doseamento da Isoniazida. *Rev. port. Farm.*, 1952, **2**, 175-179.

247. Mattu F. & Pirisi R. — Sulla caratterizzazione dell'idrazide dell'acido isonicotinico. *Chimica*, 1952, **7**, 239-243.

248. Mattu F. & Pirisi R. — Spettro di assorbimento nell'infrarosso di alcuni derivati dell'idrazide dell'acido isonicotinico. *Ann. Chim. appl.* (*Roma*), 1953, **43**, 580-584.

249. Mattu F., Pirisi R. & Manca M. R. — Su alcuni derivati dell'isonicotinilidrazide. Foto et termo-tropismo dell'o-nitrobenzyliden-isonicotinidrazide. *Ann. Chim. appl.* (*Roma*), 1952, **42**, 632-644.

250. Mayer R. — Zur Kenntniss der aus Berberin entstehenden pyridincarbonsäuren. *Monatsh. Chem.*, 1892, **13**, 344-356.

251. Mc Millan F. H., Leonard F., Meltzer R. I. & King J. A. — Antitubercular substances. II. Substitution Products of *Iso*nicotinic hydrazide. *J. Amer. pharm. Ass.*, sc. Ed., 1953, **42**, 457-464.

252. Mc Pherson W. — Ueber die Natur der Oxyazokörper. *Ber.*, 1895, **28**, 2414-2418.

253. Mc Pherson W. — On the nature of the oxyazocompounds. *Amer. chem. J.*, 1899, **22**, 364-383.

254. Meltzer R. I., Lewis A. D. & King J. A. — Antituberculars substances. IV. Thioamides. *J. Amer. chem. Soc.*, 1955, **77**, 4062-4066.

255. Mercier F. — Sur un nouveau dérivé hydrosoluble du camphre et de la spartéine : le camphosulfonate de spartéine. *C. R. Acad. Sci.* (*Paris*), 1930, **191**, 224-226.

256. Mercier F. & Detrie J. — Sur quelques nouveaux camphosulfonates d'alcaloïdes. *J. Pharm. Chim.*, 1940, 9e sér., **1**, 287-292.

257. Merz K. W. & Schirm M. — Ueber die quantitative Bestimmung von Isonicotinsäurehydrazid. *Naturwissenschaften*, 1952, **39**, 570-571.

258. Messini M. — L'idrazide dell' acido *iso*nicotinico e l'attuale terapiâ medicamentosa della tuberculosi. *Clin. Terap.*, 1952, **11**, 388.

259. Metzler D. E., Longenecker J. B. & Snell E. E. — Reversible catalytic cleavage of hydroxyamino acids by pyridoxal and metal salts. *J. Amer. chem. Soc.*, 1953, **75**, 2786.

260. Meyer H. & Mally J. — Ueber Hydrazin derivate der Pyridincarbonsäuren. *Monatsh. Chem.*, 1912, **33**, 393-414.

261. Meyer R. — Pyrogene Acetylen-Kondensationen. *Ber.*, 1912, **45**, 1609-1633.

262. Meyer R. & Tanzen A. — Pyrogene Acetylen-Kondensationen. *Ber.*, 1913, **46**, 3183-3199.

263. Meyer R. & Wesche H. — Pyrogene Acetylen-Kondensationen. IV. *Ber.*, 1917, **50**, 422-441.

264. Micoulaud M. S. — Propriétés antibiotiques du *para*-aminosalicylate d'isoniazide ; étude expérimentale et clinique. Th. doct. méd., Paris, 1954, n° 413, 75 p., 22 pl. h. t., 1 dépl. h. t.

265. Mohr E. — Ueber Dibenzhydrazide und Azodibenzoyl. *J. prakt. Chem.*, 1904, **70**, 281-302.

266. Monnet R., Sabon F., Viala A. & Grignon M. — Méthode gazométrique de dosage de l'isoniazide. *Trav. Soc. Pharm. Montpellier*, 1954, **14**, 123-127.

267. Montequi F. — Valoración de la isonicotinilhidrazida. *Ann. R. Soc. esp. Fis. Quim.*, 1952, **48 B**, 883-888.

268. Montignie E. — Un réactif très sensible des hydrazines et composés analogues. *Bull. Soc. chim. Fr.*, 1932, 4e série, **51**, 127.

269. Morand P. & Grimaud L. — Note préliminaire sur le dosage de l'hydrazide de l'acide *iso*nicotinique. Application au dosage de l'isoniazide dans les comprimés pharmaceutiques. Acad. de Pharmacie (Paris), séance du 3 décembre 1953. *Ann. pharm. franç.*, 1952, **10**, 730.

270. Morgan G. T. & Burstall F. H. — Dehydrogenation of Pyridine by anhydrous Ferric Chloride. *J. chem. Soc.*, **1932**, pp. 20-30.

271. Morvillo V. & Garattini S. — Metodi per il dosaggio dell' idrazide dell'acido isonicotinico e ricerche sul comportamento di detta sostenza nell'organismo. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, 1952, **28**, 388-390.

272. Mumm O. & Huneke H. — Synthese einiger Pyriden-polycarbonsäuren. *Ber.*, 1918, **51**, 150-164.

273. Murray A. III & Langham W. H. — A synthesis of isonicotinic acid by halogen-metal exchange and its application to the preparation of isonicotinic-C14 acid hydrazide. *J. Amer. chem. Soc.*, 1952, **74**, 6289-6290.

274. Murril P. — Halides and Perhalides of the Picolines. *J. Amer. chem. Soc.*, 1899, **21**, 828-854.

275. Netien G. & Perraud G. — Propriétés antiauxiniques de l'hydrazine maléique. *Lyon pharm.*, 1952, nlle sér., **3**, 222.

276. Neuss J. D., Seager W. J. & Mader W. J. — The spectrophotometric and polarographic determination of *iso*nico-

tinic acid hydrazide. *J. Amer. Pharm. Ass.*, sc. Ed., 1952, **41**, 670-673.

277. Neuzil E. — Identification microcristalline de l'hydrazide de l'acide isonicotinique. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 1953, **91**, 122-130.

278. Neuzil E. — Acquisitions récentes dans le domaine des tuberculostatiques de synthèse. *J. Méd. Bordeaux*, 1954, **131**, 741-775.

279. Neuzil E., Breton J. C. & Segonne J. — Le G-orange et le rouge chromazone, réactifs de la fonction hydrazine. *Bull. Soc. chim. Fr.*, **1954**, pp. 438-439.

280. Neuzil E. & Segonne J. — Nouvelles réactions de l'isonicotinylhydrazide. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 1953, **91**, 258 ; *ibid.*, 1955, **93**, 3-17.

280bis. Neuzil E. & Segonne J. — Nouveaux sels organiques de l'*iso*nicotinylhydrazide. *Bull. Soc. chim. Fr.*, **1954**, p. 895.

281. Neuzil E. & Segonne J. — Nouveaux sels de l'isoniazide et d'isonicotinylhydrazidones (1er mémoire). *Ann. pharm. franç.*, 1956, **14**, 289-305.

282. Niemann C. N., Lewis R. N. & Hays J. T. — The synthesis of the three isomeric dl-β-pyridylalanines. *J. Amer. chem. Soc.*, 1942, **64**, 1678-1682.

283. Nobili L. — Nuovi sali di chinina dell'acido canfosulfonico. *G. farm. chim.*, 1935, **84**, 232-239.

284. Oeschner de Conninck. — Contribution à l'étude de l'anhydride sélénieux. *C. R. Acad. Sci. (Paris)*, 1906, **142**, 571-573.

285. Offe H. A., Siefken W. & Domagk G. — Hydrazinderivate aus Pyridincarbonsäuren und Carbonylverbindungen und ihre Wirksamkeit gegenüber *Mycobacterium tuberculosis*. *Z. Naturforsch.*, 1952, **7**, 462-468.

286. Okajima Y. & Seki I. — Syntheses of isonicotinic acid hydrazide derivatives. *J. pharm. Soc. Japan*, 1953, **8**, 845-850.

287. Orestano G. — Un nuove chemioterapico antitubercolare (?) : l'idrazide dell'acido paraminosalicilico. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, 1952, **28**, fasc. 6, 1162-1163.

288. Orestano G. — Sull'idrazide dell'acido paraminosalicilico. IV. Considerazioni in merito a un eventuale tentativo di studio in clinica umana. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, 1953, **29**, fasc. 3, 379-380.

289. Orestano G. & Chiarlo B. — Sull'idrazide dell'acido paraminosalicilico. III. Concentrazioni nel sangue in confronto a quelle della idrazide isonicotinica e dell'acido p-aminosalicilico. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, 1953, **29**, fasc. 3, 376-379.

290. Orestano G. & Chiarlo B. — L'idrazide dell'acido paraaminosalicilico. II. Concentrazioni nel sangue e possibi-

lità di impiego in terapia. *Arch. ital. Sc. farmacol.*, 1953, 3e sér., **3**, 125-136.

291. Orestano G. & Ghione M. — Prime ricerche sull'idrazide dell'acido paraminosalicilico. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, 1952, **28**, fasc. 6, 1164-1166.
292. Orestano G. & Ghione M. — L'idrazide dell'acido para-amino-salicilico. I. Azione farmacologica ed attività inibente la crescita dell bacillo tubercolare in vitro. *Arch. ital. Sc. farmacol.*, 1952, 3e série, **2**, 332-340.
293. Orestano G. & Ghione M. — Sull'attività antimicobatterica del sangue di conigli trattati con idrazide para-amino-salicilica. *Arch. ital. Sc. farmacol.*, 1953, 3e sér., **3**, 337-343.
294. Orestano G. & Ghione M. — Ulteriori ricerche sull'attività antimicobatterica del sangue di conigli trattati con idrazide paraaminosalicilica. *Arch. ital. Sc. farmacol.*, 1954, 3e série, **4**, 28-31.
295. Ozawa H. & Kiyomoto A. — A new colorimetric determination of *iso*nicotinic acid hydrazid. *J. pharm. Soc. Japan*, 1952, **72**, 1059-1060 ; *Chem. Abstr.*, 1952, 11047 a.
296. Passedouet H., Fusey P. & Roussos M. — Comportement biochimique de quelques acylhydrazones de la glucurolactone. *Rev. Tuberc.*, 1953, **17**, 784-788.
297. Pellerin F. — Les hydrazides dans l'analyse organique fonctionnelle. *Chimie analytique*, **1950**, suppl., pp. 93-95.
298. Pennington F. C., Guercio P. A. & Salomons I. A. — Streptohydrazid. *J. Amer. chem. Soc.*, 1953, **75**, 2261.
299. Pichat L., Baret C. & Audinot M. — Synthèse de l'hydrazide de l'acide isonicotinique (isoniazide, rimifon) marqué au 14 C dans le noyau pyridine. *Bull. Soc. chim. Fr.*, **1954**, pp. 88-92.
300. Pickard L. & Lochte G. L. — The Nitrogen compounds in petroleum Distillates. XXVI. Confirmation of presence of Bz-tetrahydroquinolines in California petroleum. *J. Amer. chem. Soc.*, 1947, **69**, 14-16.
301. Pinner A. — Ueber Pyridincarbonsäuren. *Ber.*, 1900, **33**, 1225-1230.
302. Pope H. — Antagonism of isoniazid by certain metabolites. *Amer. Rev. Tuberc.*, 1953, **68**, 938-939.
303. Pope W. J. & Gibson C. S. — The rotary Powers of the salts of *d*- and l-Camphor-β-sulphonic Acid with *d*- and l-Pavine. *J. chem. Soc.*, 1910, **97**, 2211-2218.
304. Porcelatti G. & Preziosi P. — Accorgimenti di tecnica per lo studio ed il dosaggio dell' I. N. I. e dei suoi prodotti di scissione nei liquidi biologici. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, 1953, **29**, 269-271.
305. Postowsky J. J., Lugowkin B. P. & Mandryk G. Th. — Ueber die Reaktion des Selendioxyds mit einigen Aryl-hydrazinen. *Ber.*, 1936, **69 B**, 1913-1916.

306. Pruner G. — Determinazione ceriometrica dell'idrazide dell' acido isonicotinico e ricerche preliminari sul decorso della reazione. *R. C. Ist. sup. Sanità,* 1954, **17**, 434-438.

307. Rabe P. & Kindler K. — Ueber die Synthese des Dihydrochinicins und der β-[γ'-Piperidyl]-propionsäure. (Zur Kenntniss der China-Alkaloïde, XXI). *Ber.,* 1919, **52**, 1842-1850.

308. Rabjohn N. — Selenium dioxide oxidation in Adams R., Organic Reactions, vol. V ; 1 vol., 446 p., Wiley & Sons, Inc. edit., New York, 1949 ; chap. 8, pp. 331-386.

309. Radcliffe L. G. & Loo S. C. — On the preparation and uses of semi-oxamazide. *Perfume essent. Oil Rec.,* 1919, **10**, 39-41.

310. Ramirez F. & Kirby A. F. — Geometrical isomerism and absorption spectra of dinitrophenylhydrazones. *J. Amer. chem., Soc.,* 1954, **76**, 1037-1044.

311. Ramsay W. — On Picoline and its Derivatives. *Phil. Mag.,* 1876 (5), **2**, 269-281 ; *ibid.,* 1877 (5), **4**, 241-253.

312. Ratsimamanga A. R., Buu Hoï N. P., Dechamps G., Le Bihan H. & Binon F. — Sur l'activité antituberculeuse des dérivés de la phtalylhydrazine. *Arch. intern. Pharmacodyn.,* 1952, **91**, 52-62.

313. Reychler A. — Contribution à l'étude des dérivés sulfonés du camphre. *Bull. Soc. Chim. Paris,* 1898, 3e sér., **19**, 120-128.

314. Riley H. L., Morley J. F. & Friend N. A. C. — Selenium dioxide, a new oxidising agent. Part I. Its reactions with aldehydes and ketones. *J. Chem. Soc.,* **1932**, pp. 1875-1883.

315. Robitzek E. H., Selikoff I. J. & Ornstein G. G. — Chemotherapy of human tuberculosis with hydrazine Derivatives of isonicotinic acid. (Preliminary report of representative cases.) *Quart. Bull. Sea View Hosp.,* 1952, **13**, 27-51.

316. Rossini G. — Sull'attività antitubercolare del metansulfonato sodico dell'idrazide dell'acido isonicotinico. *G. ital. Tuberc.,* 1953, **7**, 80-90.

317. Roux A. — L'*iso*nicotinyl hydrazide ou isoniazide. Composition chimique et possibilités réactionnelles. *Lyon pharm.,* 1952, nouvelle série, **3**, 199-218.

318. Runti C. — Su alcuni L-ascorbati di base organiche d'interesse farmaceutico. *Il Farmaco,* Ed. sc., 1955, **10**, 424-431.

319. Sabon F. & Monnet R. — Séparations par chromatographie sur papier des acides styphnique, picrique et picramique. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux,* 1955, **94**, 45-46.

320. Sah P. P. T. — Thèse Doct., Univ. du Wisconsin, juin 1926 ; cité par Sah [322].

321. Sah P. P. T. — D-glucuronolactone *Iso*nicotinyl Hydrazone. *J. Amer. chem. Soc.,* 1953, **75**, 2512-2513.

322. Sah P. P. T. — Synthesis of iso-nicotinic acid hydrazide, a new chemotherapeutic agent for the treatment of tuberculosis. *Ann. Acad. sin.*, 1954, **1**, 527-548.

323. Sah P. P. T. & Chien S. L. — Alkyl oxalates and oxamates. *J. Amer. chem. Soc.*, 1931, **53**, 3901-3903.

324. Sah P. P. T. & Hsü C. L. — *p*-Iodobenzohydrazide as a reagent for the identification of aldehydes and ketones. *Rec. Trav. chim.*, 1940, **59**, 349-356.

325. Sah P. P. T. & Li T. T. — *m*-Iodobenzohydrazide as a reagent for the identification of aldehydes and ketones. *J. Chin. chem. Soc.*, 1946, **14**, 24-30.

326. Sah P.P. T. & Peoples S. A. — The antitubercular activity of D-Galacturonic acid *Iso*nicotinyl Hydrazone. *J. Amer. pharm. Ass.*, Sc. Ed., 1953, **42**, 612-613.

327. Sah P. P. T. & Peoples S. A. — *Iso*nicotinyl hydrazidones as antitubercular agents and derivatives for identification of aldehydes and ketones. *J. Amer. pharm. Ass.* Sc. Ed., 1954, **43**, 513-524.

328. Salmon-Legagneur F. — Diacides, *in* Grignard V., Dupont G. & Locquin R., Traité de chimie organique, 23 vol., Masson & Cie édit., Paris, 1935-1955 ; vol. X, p. 94.

329. Savoia F. — Determinazione cromatografica di acido nicotinico e derivati. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, 1954, **30**, 29-30.

330. Schaeffer W. B. — The effect of ketone compounds on the inhibition of growth of tubercle bacilli by isoniazid *in vitro*. *Amer. Rev. Tuberc.*, 1953, **68**, 273-276.

331. Scholz C. — Zur Konstitution des Yohimbins. *Helv. chim. Acta*, 1935, **18**, 923-933.

332. Schoog M. — Quantitativen *Iso*nicotinsäurehydrazid-Nachweiss mit 2-4-Dinitrochlorbenzol. *Münch. med. Wschr.*, 1952, **94**, 2135.

333. Schreiber R. S. & Shriner R. L. — Anomalous Mutarotation of Amine Salts of *d*-Camphor-10-sulfonic Acid. Attempted Resolution of Tri-substitued Nitrogen Compounds. *J. Amer. chem. Soc.*, 1935, **57**, 1306-1311.

334. Schreiber R. S. & Shriner R. L. — Anomalous Mutarotation of Salts of Reychler's Acid. II. Ketimine Formation from Amine Salts of *d*-Camphor-10-sulfonic Acid. *J. Amer. chem. Soc.*, 1935, **57**, 1445-1447.

335. Scott P. G. W. — The detection and determination of *iso*nicotinylhydrazide. *J. Pharm. Pharmacol.*, 1952, **4**, 681-686.

336. Segonne J. M. L. — Recherches sur l'hydrazide de l'acide isonicotinique et quelques substances pyridiniques d'intérêt biologique. Th. doct. Méd., Bordeaux, 1955, 1 vol., 143 p., Impr. E. Drouillard édit., Bordeaux 1955.

337. Selikoff I. J., Robitzek E. H. & Ornstein G. G. — Toxicity

of hydrazine derivatives of isonicotinic acid in the chemotherapy of human tuberculosis. (A preliminary report.) *Quart. Bull. Sea View Hosp.*, 1952, **13**, 17-26.

338. Sell W. J. & Dootson F. W. — Studies on Citrazinic Acid. Part V. *J. chem. Soc.*, 1897, **71**, 1068-1084.

339. Shavel J. Jr., Leonard F., Mc Millan F. H. & King J. A. — Antitubercular substances. I. Alkyl, aralkyl aryl, and cyclic hydrazides and miscellaneous nitrogenous derivatives. *J. Amer. pharm. Assoc.*, sc. Ed., 1953, **42**, 402-407.

340. Shchukina M. N., Pershin G. N., Makeeva O. O., Sazonova E. D., Nikitskaya E. S., Yanina A. D. & Yakovleva A. I. — Isonicotinyl hydrazones and their antituberculous activity. *Doklady Acad. Nauk. S.S.S.R.*, 1952, **84**, 981 ; in *Amer. Rev. Tuberc.*, 1953, **68**, A 22.

341. Shriner R. L. & Sutherland H. — Anomalous Mutarotation of Salts of Reychler's Acid. V. Comparison of the Absorption Spectrum of 2-(N-Methylimino)-*d*-camphane-10-sulfonic Acid with the Spectra of other Camphane Derivatives. *J. Amer. chem. Soc.*, 1938, **60**, 1314-1316.

342. Skraup Zd. H. — Ueber die dritte Pyridin-monocarbonsäure. *Ber.*, 1879, **12**, 2332-2334.

343. Skraup Zd. H. — Ueber die Cinchomeronsäure. *Monatsh. Chem.*, 1880, **1**, 184-192.

344. Skraup Zd. H. — Ueber die Cincholoiponsäure. *Monatsh. Chem.*, 1896, **17**, 365-394.

345. Smith C. R. — Dipyridyls from pyridine. *J. Amer. chem. Soc.*, 1924, **46**, 414-419.

346. Smolarek W. & Dlugosch G. — Ueber die papierelektrophoretische Trennung der Tuberkulostatika Paraaminosalicylsäure (P A S) und Isonikotinsäurenhydrazid (I N H). *Naturwissenschaften*, 1954, **41**, 18.

347. Soldi A., Gialdi F. & Ponci R. — Influenza dell'idrazide *iso*-nicotinica sulla ossidazione catalitica della soluzioni di acido ascorbico. I. *Il Farmaco*, Ed sc., 1952, **7**, 411-417 ; *Il Farmaco*, Ed. sc., 1953, **8**, 204-211.

348. Spath E. & Spitzer H. — Zur Kenntniss der Chloride einiger einfacher Pyridin- und Chinolin-carbonsäuren. *Ber.*, 1926, **59 B**, 1477-1486.

349. Stein G. — Oxydationem mit Selendioxyd. *Z. Angew. chem.*, 1941, **54**, 146-152.

350. Stolle R. — Die titrimetrische Bestimmung von Hydrazin und die Verwendung von Hydrazinsulfat zur Titerstellung der Jodlösung. *J. prakt. Chem.*, 1902, **66**, 332-338.

351. Stolle R. & Zinsser G. — Ueber die Ueberführung der Hydrazide der n-Buttersäure in heterocyklische Verbindungen. *J. prakt. Chem.*, 1904 [2], **69**, 486-502.

352. Sutherland H. & Shriner R. L. — Anomalous Mutarotation of Salts of Reychler's Acid. IV. Comparison of 2-(N-phenylketiminé)-*d*-camphane-10-sulfonic Acid with *d*-Camphor-10-sulfonanilide. *J. Amer. chem. Soc.*, 1936, **58**, 62-63.

353. Tchitchibabine A. E. — Synthèses au moyen de l'acétylène. *J. Soc. physico-chim. russe*, 1915, **47**, 703-713.

354. Tchitchibabine A.-E. — Hétérocycles hexatomiques avec un atome d'azote. Groupes de la pyridine et de la pipéridine ; *in* Grignard V., Dupont G. et Locquin R., Traité de chimie organique, 23 vol., Masson & C^ie^, édit., Paris, 1935-1955, vol. XX, pp 33-375.

355. Tchitchibabine A. E. & Moschkin A. — Condensation de l'acétylène avec l'ammoniaque en présence d'alumine. *J. Soc. physico-chim. russe*, 1922-1923, **54**, 611-624.

356. Ternajgó L. — Ueber eine neue Darstellungsweise der γ-Pyridincarbonsäure und über einige Derivate derselben. *Monatsh. Chem.*, 1900, **21**, 446-460.

357. Thiele J. & Barlow W. — III. Condensationsprodukte von Aminoguanidin und Semicarbazid mit Chinonen. *Ann.*, 1898, **302**, 311-332.

358. Tierie G. — Alkylsemioxamazides. *Rec. Trav. chim.*, 1933, **52**, 357-365.

359. Ullmann F. & Uzbachian J. B. — Ueber die Verwendlung von Permanganaten als Oxydationsmittel. *Ber.*, 1903, **36**, 1797-1807.

360. Umbreit W. W., Burris R. H. & Stauffer J. F. — Manometric techniques and tissue metabolism. 1 vol., 12^e^ édit., 227 p., Burgess publishing Co. édit., Minneapolis, 1951 ; pp. 2-5.

361. Van Duin H. — Isomerism in the 2,4-dinitrophenylhydrazones α-keto-acide esters. *Rec. Trav. chim.*, 1954, **73**, 78-88.

362. Velluz L. & Petit A. — Recherches sur la séparation des cétostéroïdes. I. Précipitation élective de la Δ_4-androsténédione-3,17 par l'hydrazide nicotinique. *Bull. Soc. chim. Fr.*, 1945, **12**, 951-952.

363. Vène J. — L'anhydride sélénieux agent oxydant en chimie organique. *Bull. Soc. chim. Fr.*, 1945, **12**, 506-516.

364. Viala A. — Méthode de dosage gazométrique de deux dérivés de l'isoniazide : glyconiazide et pasiniazide. *Trav. Soc. Pharm. Montpellier*, 1955, **15**, 126-129.

365. Viallier J. & Cayré R. M. — Action du para-amino-salicylate d'isonicotyl hydrazide sur les mycobactéries. I. Action bactériostatique exercée *in vitro*. *Ann. Inst. Pasteur*, 1956, **90**, 114-117.

366. Viallier J. & Cayré R. M. — Activité catalasique et sensibilité à l'isozianide des mycobactéries pathogènes. *Ann. Inst. Pasteur*, 1956, **90**, 373-374.

367. Voigt R. — Ueber die β-Pyridintricarbonsäure. *Ann.*, 1885. **228**, 29-55.

368. Wachsmuth H. — Le dosage des alcaloïdes en solution organique. Action de l'acide flavianique. *J. Pharm. Belg.*, 1953, **8**, 283-289.

369. Wachsmuth H. — Réactions de l'*iso*nicotylhydrazide. *J. Pharm. Belg.*, 1953, **35**, 561-568.

370. Waitkins G. R. & Clark C. W. — Selenium dioxide : preparation, properties and use as oxidizing agent. *Chem. Rev.*, 1945, **36**, 235-289.

371. Wedekind E. — Das Aktivierungsproblem bei quartären Ammoniumbasen mit einer Doppelbindung am Stickstoff (53. Mitteilung) über das asymmetrische Stickstoff atom. *Ann.*, 1925, **442**, 119-129.

372. Weidel H. — Ueber das Cinchonin. *Ann.*, 1874, **173**, 76-116.
Weidel H. — Ueber eine der α Sulfocinchoninsäure isomere Verbindung und Derivate derselben. *Monatsh Chem.*, 1881, **2**, 565-579.

373. Weidel H. & Herzig J. — Studien über Verbindungen aus dem animalischen Theer. III. Lutidin. *Monatsh. Chem.*, 1880, **1**, 1-47.

374. Weidel H. & Russo M. — Studien über das Pyridin. *Monatsh. Chem.*, 1882, **3**, 850-885.

374bis. Werner A. E. A. — Studies on the oxidising action of seleniousacid. I. Organic sulphur compounds. *Proc. roy. Soc. Dublin*, 1938-1942, **22**, 387-392.

375. Wibaut J. P. & Arens J. F. — Die Bereitung von 4-Äthylpyridin aus Pyridin, Essigsäure anhydrid, Essigsäure und Zinkstaub ; über die hierbei verlaufenden chemischen Reaktionen und gebildeten Zwischen-Produkte. *Rec. Trav. chim.*, 1941, **60**, 119-137.

376. Wieland H. & Fressel H. — Die Dissoziation der Tetrazene. Zur Kenntnis der gemischt-aromatischen ditertiären Hydrazine (XI). *Ann.*, 1912, **392**, 133-156.

377. Wilson F. J. & Pickering E. C. — Derivatives of Semioxamazide. Part I. Ketonic Semioxamazones. *J. chem. Soc.*, 1923, **123**, 394-397.

378. Wilson F. J. & Pickering E. C. — Derivatives of Semioxamazide. Part II. *J. chem. Soc.*, 1924, **125**, 1152-1156.

379. Wojahn H. — Zum qualitativen und quantitativen Wachweis von Hydraziden des Pyridins, vorwiegend von *Iso*nikotinsäurehydrazid. *Arzneim. Forsch.*, 1952, **7**, 324-326.

380. Yale H. L., Losee K., Martins J., Holsing M., Perry F. M. & Bernstein J. — Chemotherapy of experimental tuberculosis. VIII. The synthesis of acid hydrazides, their derivatives and related compounds. *J. Amer. chem. Soc.*, 1953, **75**, 1933-1942.

381. Zamboni V. & Defranceschi A. — Identification of *iso*nicotinoylhydrazones of pyruvic acid and α-ketoglutaric acid in rat urine after treatment with *iso*nicotinic acid hydrazid (isoniazid). *Biochim. biophys. Acta*, 1954, **14**, 430-431.

382. Zatman L. J., Kaplan N. O., Colowick S. P. & Ciotti M. M. — Formation of the isonicotinic acid hydrazide analog of D P N. *J. Amer. chem. Soc.*, 1953, **75**, 3293-3294.

383. Zincke R. — Ueber Dinitrophenylpyridiniumchlorid und dessen Umwandlungsproducte. Allegemeiner Theil. *Ann.*, 1904, **330**, 361-374.

Zincke R. — Ueber Dinitrophenylpyridinium chloride und dessen Umwandlungsproducte. Experimenteller Theil. *Ann.*, 1905, **333**, 296-345.

384. Zincke Th. & Bindewald H. — Ueber Phenylhydrazinderivate des α- und β-Naphtochinons. Identität des α-Derivats mit dem Azoderivat des α-Naphtols. *Ber.*, 1884, **17**, 3026-3033.

385. Zubiani M. — Primi risultati clinici sull'impiego del metansulfonato sodico della isonicotinilidrazide nella cura della tubercolosi polmonare. *Gazz. sanit.* (*Milano*), **1953**, pp. 189-191.

TABLE DES MATIÈRES

Pages

INTRODUCTION 1

PREMIÈRE PARTIE

Synthèse de l'hydrazide de l'acide *iso*nicotinique; quelques caractéristiques physico-chimiques de ce tuberculostatique.

I. — Synthèse de l'hydrazide de l'acide *iso*nicotinique 10

II. — Synthèse de l'acide *iso*nicotinique 11

A. — Préparation à partir de composés pyridiniques 11

1° Préparation à partir de composés pyridiniques substitués en position γ 11

a) Transformation de pyridines monosubstituées en γ 11

b) Transformation de pyridines plurisubstituées possédant un substituant en position γ 13

2° Synthèse à partir de composés pyridiniques non substitués en position γ 15

a) Synthèse à partir de la pyridine 15

b) Synthèse à partir de pyridines α-substituées 17

c) Synthèse à partir de pyridines β-substituées 21

B. — Synthèse totale 21

1° Synthèse à partir de composés aliphatiques 22

a) Synthèse à partir de l'acétylène 22

b) Synthèse à partir de l'acétoacétate d'éthyle 23

c) Synthèse à partir de l'acide pyruvique 24

d) Synthèse à partir de la β-méthylbutyrolactone.. 24

e) Synthèse à partir de l'acide citrique 25

2° Synthèse à partir de dérivés aromatiques 26

III. — Quelques caractéristiques physico-chimiques de l'isoniazide 27

DEUXIÈME PARTIE

Recherches personnelles : quelques aspects de la réactivité chimique de l'isoniazide.

Pages

CHAPITRE PREMIER. — RÉACTIONS DE L'ISONIAZIDE AVEC DIFFÉRENTS ACIDES : NOUVEAUX SELS MINÉRAUX ET ORGANIQUES D'ISONIAZIDE 39

I. Bases pyridinium 39

II. — Réactions du noyau pyridinique dans l'isoniazide. 41

III. — Nouveaux sels minéraux d'isoniazide 44

1° Bromure de γ-carboxyhydrazide pyridinium..... 44
2° Iodure de γ-carboxyhydrazide pyridinium 46
3° Action de l'acide fluorhydrique sur l'INH 46
4° Sulfate de γ-carboxyhydrazide pyridinium 47
5° Phosphate de γ-carboxyhydrazide pyridinium.... 48
6° Arséniate de γ-carboxyhydrazide pyridinium 49
7° Action de l'acide borique 49

IV. — Nouveaux sels organiques d'isoniazide 49

A. — Sels d'acides aliphatiques polycarboxyliques ... 49
1° Oxalate de γ-carboxyhydrazide pyridinium 49
2° Malonate de γ-carboxyhydrazide pyridinium.... 50
3° Succinate de γ-carboxyhydrazide pyridinium... 51
4° Malate de γ-carboxyhydrazide pyridinium 52
5° Tartrate de γ-carboxyhydrazide pyridinium 52
6° Fumarate de γ-carboxyhydrazide pyridinium ... 52
7° Adipate de γ-carboxyhydrazide pyridinium 53
8° Citrate de γ-carboxyhydrazide pyridinium 53
9° Obtention de sels cristallisés d'isoniazide et force des acides mis en jeu 54
10° Action de l'acide maléique sur l'isoniazide 55
11° Résultats infructueux 57

B. — Sels d'acides aromatiques 58
1° *o*-Toluène sulfonate de γ-carboxyhydrazide pyridinium 58
2° Nitro-3-phtalate de γ-carboxyhydrazide pyridinium 58
3° Phénylarsinate de γ-carboxyhydrazide pyridinium 58
4° *p*-Hydroxyphénylarsinate de γ-carboxyhydrazide pyridinium 59
5° Hydroxy-4-nitro-3-phénylarsinate de γ-carboxyhydrazyde pyridinium 59

Pages

6° Essais infructueux 60

C. — Réactions de l'isoniazide avec quelques acides halogénés 60

1° Action de l'acide monobromacétique sur l'isoniazide 60

a) Réaction colorée de l'isoniazide et de l'acide monobromacétique en solution aqueuse 61

b) Action de l'acide monobromacétique sur diverses substances apparentées à l'isoniazide. 63

c) Essai d'interprétation 73

2° Action de l'acide monochloracétique sur l'isoniazide 74

3° Action de l'acide α-bromopropionique 75

4° Trichloracétate de γ-carboxyhydrazide pyridinium 76

V. — Conclusions du premier chapitre 76

Chapitre II. — Réactions de l'isoniazide avec les composés carbonylés 78

I. — Nouvelles *iso*nicotinylhydrazidones apparentées à la vanilline 80

1° *iso*Nicotinylhydrazidone de l'*iso*éthylvanilline.... 80

2° *iso*Nicotinylhydrazidone de l'*ortho*éthylvanilline.. 81

II. — Action de l'acide camphosulfonique sur l'isoniazide; camphosulfonates d'*iso*nicotinylhydrazidones 82

A. — *iso*Nicotinylhydrazidone de l'acide D-camphosulfonique-10 82

B. — Camphosulfonates d'*iso*nicotinylhydrazidones... 84

1° Camphosulfonate de l'*iso*nicotinylhydrazidone du benzaldéhyde 84

2° Camphosulfonate de l'*iso*nicotinylhydrazidone du salicylaldéhyde 85

3° Camphosulfonate de l'*iso*nicotinylhydrazidone de l'héliotropine 85

4° Camphosulfonate de l'*iso*nicotinylhydrazidone de l'aldéhyde anisique 86

5° Camphosulfonate de l'*iso*nicotinylhydrazidone du *p*-diméthylaminobenzaldéhyde 86

6° Camphosulfonate de l'*iso*nicotinylhydrazidone du *m*-nitrobenzaldéhyde 87

7° Camphosulfonate de l'*iso*nicotinylhydrazidone de l'aldéhyde cinnamique 87

8° Camphosulfonate de l'*iso*nicotinylhydrazidone du furfural 88

Pages

9° Camphosulfonate de l'*iso*nicotinylhydrazidone de la benzylidène-acétone 88
C. — Essais infructueux 89
III. — *iso*Nicotinylhydrazidones de méthylpentoses 90
1° Action de l'isoniazide sur le L(+)rhamnose 90
2° Action de l'isoniazide sur le L(-)fucose 92
IV. — Réaction de l'isoniazide avec quelques composés dicarbonylés 92
1° Bis-*iso*nicotinylhydrazidone de l'aldéhyde téréphtalique 93
2° Bis-*iso*nicotinylhydrazidone du dialdéhyde vanillique 94
3° Bis-*iso*nicotinylhydrazidone du dialdéhyde éthylvanillique 95
4° Action de l'isoniazide sur l'aldéhyde *o*-phtalique.. 95
V. — Action de l'isoniazide sur quelques quinones et composés quinoniques 97
1° Action de l'isoniazide sur la *p*-benzoquinone.... 98
2° Action de l'isoniazide sur la toluquinone 100
3° Action de l'isoniazide sur la juglone 101
4° Action de l'isoniazide sur différents colorants de structure quinonique 101
a) Groupe de l'indophénol 102
b) Groupe des dérivés du triphénylméthane.... 102
c) Groupe du xanthène 103
d) Colorants naturels 104
VI. — Conclusions du deuxième chapitre 104

CHAPITRE III. — OXYDATION SÉLÉNIQUE DE L'ISONIAZIDE ET DE QUELQUES SUBSTANCES APPARENTÉES 106

I. — Oxydation sélénique de l'isoniazide 109
1° Etude chromatographique 109
2° Etude manométrique 112
a) Oxydation en milieu acide 114
b) Influence du *p*H sur la vitesse d'oxydation .. 115
II. — Oxydation sélénique de quelques dérivés de l'isoniazide 119
1° Oxydation sélénique d'un sel d'INH, le pasiniazide. 119
2° Oxydation sélénique de diverses *iso*nicotinylhydrazidones 121
3° Oxydation sélénique de diverses N_1-*iso*nicotinoylhydrazines substituées 125

Pages

4° Oxydation sélénique des dérivés glucidiques de l'isoniazide 129
5° Oxydation sélénique de composés pyridiniques plus ou moins apparentés à l'isoniazide 132

III. — Oxydation sélénique de divers hydrazides aromatiques ou aliphatiques 133
1° Oxydation sélénique de quelques hydrazides aromatiques 134
2° Oxydation sélénique de divers hydrazides aliphatiques 136
3° Cas particulier de l'hydrazide maléique 140

IV. — Oxydation sélénique de diverses hydrazines 141
1° Oxydation sélénique de l'hydrazine 142
2° Oxydation sélénique de la phénylhydrazine et de quelques phénylhydrazines substituées 144
3° Oxydation sélénique de l'hydrazino-1-phtalazine. 148

V. — Oxydation sélénique de quelques dérivés hydraziniques de l'acide carbonique 150
1° Oxydation sélénique de la semicarbazide et de substances voisines 151
2° Oxydation sélénique de la thiosemicarbazide et de substances voisines 153
3° Oxydation sélénique de l'aminoguanidine et de substances voisines 155

VI. — Conclusions du troisième chapitre 155

Conclusions générales 157

Références bibliographiques 161

Table des matières 187

Bordeaux. — Impr. E. Drouillard, 3, place de la Victoire.